



Les mollusques du Golfe de Gabès (Méditerranée sud-orientale) : néo-endemisme ou variations écophénotypiques ?

Cherifa Aissaoui

► To cite this version:

Cherifa Aissaoui. Les mollusques du Golfe de Gabès (Méditerranée sud-orientale) : néo-endemisme ou variations écophénotypiques ?. Zoologie des invertébrés. Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS, 2016. Français. NNT : 2016MNHN0014 . tel-01904458

HAL Id: tel-01904458

<https://theses.hal.science/tel-01904458>

Submitted on 25 Oct 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

MUSEUM NATIONAL



D'HISTOIRE NATURELLE

Ecole Doctorale « Sciences de la Nature et de l'Homme : Écologie et Évolution »

Année 2016

N° attribué par la bibliothèque

□□□□□□□□□□

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DU MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

Spécialité: Systématique évolutive

Présentée et soutenue publiquement par

Cherifa AISSAOUI

Le 24 Octobre 2016

Les mollusques du golfe de Gabès (Méditerranée sud-orientale): néo-endémisme ou variations écophénotypiques ?

Sous la direction de : M. Philippe, BOUCHET

Composition du JURY :

M. Marco, Oliverio	Professeur, Universita "La Sapienza" Roma, Italie.	Examineur
M. Philippe, Bouchet	Professeur, Muséum national d'histoire naturelle, Paris.	Directeur de Thèse
M. Serge, Gofas	Professeur, Campus de Teatinos Université de Malaga, Espagne.	Rapporteur
M. Thierry, Perez	Directeur de Recherche, Institut Méditerranéen, Aix -Marseille Université, Marseille.	Rapporteur
Mme, Line Le Gall	Maître de Conférences, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris.	Examineur
M. Pierre, Lozouet	Docteur, Ingénieur, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris.	Examineur
M. Ezzeddine, Mahmoudi	Professeur, Faculté des sciences de Bizerte, Université de Carthage, Tunisie.	Invité

Remerciements

Pour m'avoir fait confiance en me proposant ce travail de thèse grand merci à mon directeur de thèse, Philippe Bouchet. Merci de m'avoir accueillie dans votre dynamique équipe de malacologie, pour le soutien matériel, intellectuel et moral que vous m'avez témoigné. Je ne peux trouver les mots pour exprimer toute ma gratitude, pour votre patience, vos encouragements permanents, vos conseils et pour la transmission de votre savoir. Philippe a su me soutenir et me rassurer dans les moments difficiles, comme il a su se montrer complice dans les moments drôles.

Je suis de même profondément reconnaissante à Nicolas Puillandre de m'avoir transmis ses connaissances moléculaires. Je le remercie pour ses conseils avisés en phylogénie, le temps qu'il m'a accordé durant cette thèse ainsi que pour l'intérêt qu'il porte à mes travaux. Je le remercie aussi pour sa disponibilité et son attention.

Merci aux membres du Jury, Marco Oliverio, Serge Gofas, Pierre Lozouet, Thierry Perez, Ezzeddine Mahmoudi et Line Le Gall, d'avoir accepté d'évaluer et d'examiner mon travail. Merci également à Sarah Samadi, Pierre Chevaldonné et Nicolas Puillandre, pour l'attention et les conseils qu'ils ont pu m'apportés en acceptant de faire partie de mon comité de thèse.

Merci tout spécialement à Gianni Spada de m'avoir accompagnée durant ma thèse et d'avoir su me communiquer son enthousiasme pour les mollusques méditerranéens.

Merci à Guillaume Lecointre pour son accueil au sein du Département de «Systématique et Evolution ». Merci surtout à Nathalie Machon et Bruno De Reviers pour leur compréhension et la confiance qu'ils m'ont témoignée en m'accueillant au sein de l'Ecole doctorale « Sciences de la Nature et de l'Homme ». Merci à Philippe Grandcolas pour son accueil au sein de l'UMR7005 et de l'équipe «Systématique, Adaptation, Evolution».

Merci à toute l'équipe de Malacologie pour son accueil, son soutien et les expertises indispensables sur lesquelles je me suis appuyée au cours de ma thèse: Barbara Buge, Rudo von Cosel, Gilberto Marani, Alice Leblond, Corinne Bolze, Cyril Chambard, Abderhaman Latreche, Jérôme Mainguy, Sébastien Faninoz, Manuel Caballer, Marie Hennion. Merci également aux collègues du S.P.N., Fanny Lepareur et Marie La Rivière

Je remercie particulièrement Virginie Héros, Pierre Lozouet et Philippe Maestrati pour leur aide continue, leur disponibilité, leur attention et leur soutien pendant les moments difficiles. Je vous exprime, tous mes remerciements et mon respect.

Merci à toute l'équipe du Service de Systématique Moléculaire plus particulièrement à Josie Lambourdière, Céline Bonillo, Laure Corbari, José Utge. Merci à Delphine Gey pour son aide pendant les manipulations moléculaires et pour leurs remarques pertinentes et constructives.

Je suis également reconnaissante du temps que m'ont accordé, Madiha Abada, Anais, Mahjouba Fassa et Philippe Leballeur pour m'aider à résoudre et suivre les démarches de l'administration.

Merci également à tous ceux dont j'ai croisé la route ici ou ailleurs, et qui m'ont chacun apporté leur aide notamment pour les échantillonnages: Kyriakos Papavasileiou, Paolo Rosso, Emmanuel Vassard, Peter Stahlschmidt, Jean Pierre Miquel, Jacques Pelorce, Christiane Delongueville, Alexander Fedosov, Yuri Kantor, Hugo Kool et Robert Cowie.

Merci à Serge Gofas, Marie-Catherine Boisselier, Lee Ann Galindo, Marco Oliverio, Andrea Barco, Paolo Mariottini pour leur collaboration sur différents projets et pour leur soutien et leur aide précieuse.

Merci également à Samir Ghannem, Lazhar Mhadhbi, Sonia Zrelli, Afef Brahmi, Bejaoui Mustapha et Khalloufi Noureddine. Je les remercie chaleureusement de leur fidèle amitié et pour le soutien moral qu'ils m'ont apportés. Merci à Françoise ainsi qu'à tous les membres du Club de plongée à Djerba.

Enfin, je remercie Mohamed et tous ceux de ma famille et mes amis qui me soutiennent depuis le début et ceux qui se sont déplacés pour venir m'écouter et me soutenir à Paris lors de ma soutenance.

La présente thèse ne constitue pas une publication au sens
du Code International de Nomenclature Zoologique.
[Code, Recommandation 8E]

SOMMAIRE

CHAPITRE I	17
CONTEXTE ET PROBLEMATIQUE	17
Introduction	18
1.1 Le golfe de Gabès au sein de la Méditerranée.....	23
1.1.1 Géographie, géomorphologie, sédimentologie et climatologie du golfe de Gabès	23
1.1.2 Océanographie de la région du golfe de Gabès	24
1.2 Aperçu sur la biodiversité du golfe de Gabès.....	26
1.2.1 L’herbier à <i>Posidonia oceanica</i>	26
1.2.2. Le golfe de Gabès: pôle de biodiversité malacologique marine et centre de spéciation	27
1.2.3 L’exploration malacologique dans le golfe de Gabès: historique et liste des taxons	28
1.3. Objectifs et plan de la thèse.....	40
CHAPITRE II.....	45
APPROCHE INTEGRATIVE: CADRE CONCEPTUEL	45
ET METHODES	45
2.1 Concepts et stratégie de délimitation d’espèce.....	46
2.2 Echantillonnage, obtention des données, identification morphologique et mise en base de données	49
2.3 Séquençage et extraction d’ADN	52
CHAPITRE III	57
DIVERSITE CRYPTIQUE CHEZ LES VETIGASTROPODA (FISSURELLIDAE ET TROCHIDAE)	57
3.1 Le genre <i>Diodora</i> en Méditerranée orientale (Mollusca, Gastropoda, Fissurellidae): nouvelle perspective taxonomique et endémisme dans le golfe de Gabès	58
Article 1: NEW INSIGHTS IN THE TAXONOMY OF MEDITERRANEAN DIODORA (MOLLUSCA, GASTROPODA, FISSURELLIDAE).....	61
3.2 Diversité cryptique dans le genre <i>Jujubinus</i> (Mollusca, Gastropoda, Trochidae): les complexes <i>exasperatus</i> et <i>striatus</i>	70
3.2.1 Jeu de données et analyse phylogénétique	71
3.2.2 Résultats	72
3.2.3 Discussion et conclusion	74
CHAPITRE IV	79
DIVERSITE CRYPTIQUE EN MEDITERRANNEE CHEZ LES BUCCINIDAE DU GENRE <i>APLUS</i>	79
4.1 Les espèces assignées traditionnellement au genre <i>Polia</i> en Méditerranée	80

4.2 Approche intégrative	81
Article 2: CRYPTIC DIVERSITY IN MEDITERRANEAN GASTROPODS OF THE GENUS <i>APLUS</i> (NEOGASTROPODA, BUCCINIDAE).....	82
CHAPITRE V	111
LES NASSARIIDAE DU GOLFE DE GABES : ENDEMISME ET DIVERSITE CRYPTIQUE....	111
5.1 Introduction	112
5.2 Endémisme ou variation?	113
Article 3: THE NASSARIIDS FROM THE GULF OF GABÈS REVISITED (NEOGASTROPODA, NASSARIIDAE).....	114
CHAPITRE VI	149
DIVERSITE CRYPTIQUE CHEZ LES MURICIDAE (CAENOGASTROPODA).....	149
6.1 Le genre <i>Ocenebrina</i> (Ocenebrinae).....	150
6.1.1 Matériel et méthodes	151
6.1.2 Résultats	153
6.1.3 Discussion	154
6.1.4 Conclusion.....	156
Article 4: THE IDENTITY OF THE TYPE SPECIES OF THE SMALL MUSSEL DRILLS GENUS <i>OCINEBRINA</i> JOUSSEAUME, 1880 (MOLLUSCA: GASTROPODA: MURICIDAE), WITH THE DESCRIPTION OF A NEW SPECIES	161
6.2. Le genre <i>Muricopsis</i> (Muricopsinae)	184
6.1.1 Matériel et méthodes	184
6.2.2 Résultats et discussion.....	185
6.2.3 Conclusion.....	188
CHAPITRE VII.....	193
DISCUSSION GENERALE : BILAN DE L'ENDEMISME ET RETOUR A LA BIOLOGIE DE CONSERVATION	193
7.1 Bilan de l'endémisme et considérations biogéographiques.....	194
7.2 Réflexion sur la conservation de la biodiversité marine dans le golfe de Gabès et en Méditerranée.....	200
7.3. Perspectives	206
Bibliographie	209
Annexes	227

Listes des Figures

Figure 1. Variation de la température des eaux de surface : A : en Mai; B: en Juillet; C : moyenne annuelle (Operational oceanography group Italy, INGV 2012) (minimum et maximum indiqués). D : Variation annuelle de la production primaire (gC/m²/an), Lab. d'Océanographie de Villefranche..... 19

Figure 2. Principales phases de succession des faunes en mer Méditerranée durant le Quaternaire (ancienne terminologie en partie conservée et limite du Quaternaire modifiée; d'après Laubier & Emig 1993 ; Emig & Geistdoerfer 2004)..... 21

Figure 3. La biorégion Tempérée Est Atlantique et l'invasion des espèces de la mer Rouge «Migration Lessepsienne» (D'après Gofas et al. 2011a, Lozouet 2014). 22

Figure 4. Circulation générale de surface dans la mer Méditerranée (d'après Millot & Taupier-Letage 2005)..... 25

Figure 5. Localisation du matériel séquencé. 1: matériel collecté et séquencé dans le cadre de ce travail (cercle noir: récolté par les collaborateurs; cercle vert: récolte personnel à l'aide de l'équipe du MNHN), 2: matériel collecté et séquencé par des collaborateurs (cercle rouge). 50

Figure 6. Chaîne de traitement du matériel, de la collecte aux collections et la mise en base de données..... 52

Figure 7. *Diodora graeca* sur son substrat rocheux. A. en Bretagne, B. en Méditerranée (d'après Tourenne et al. 2014). *Diodora italica* : mer Adriatique (C), (Anne Frijsinger & Mat Vestjens, consulté 2016 www.natuurlijkmooi.net); golfe de Gabès (D)..... 59

Figure 8. Localisation du matériel séquencé pour le genre *Jujubinus*..... 75

Figure 9. Phylogénie moléculaire chez le genre *Jujubinus* (Vetigastropoda; Trochidae) produite par des analyses indépendantes (A: COI, B: 28S) d'inférence bayésienne. Les PP < 50% ne sont pas représentées. Six lignées (C1-C6) sont délimitées et bien supportées par les analyses phylogénétiques. 76

Figure 10. Diversité cryptique au sein du genre *Jujubinus*. a: *J. corallinus*, Fettouvaia, Ile d'Elbe, IM-2013-32663; b et c: *J. corallinus*, mer Egée, Halkidiki, respectivement IM-2013-32746 et IM-2013-32751; d: *J. corallinus*, La Ciotat, Calanque de Figuerolles, IM-2013-32743; e: *J. exasperatus*, Cabos de Palos, IM-2013-32680; f: *J. exasperatus*, Djerba; IM-2013-32107 ; g: *J. exasperatus*, La Ciotat, Calanque de Figuerolles, IM-2013-32744; h, i: *J. exasperatus*, Fettouvaia, Ile d'Elbe, respectivement IM-2013-32667 et IM-2013-32666; j et k : *J. fraterculus*, Djerba, respectivement, IM-2013-31802 et IM-2013-31891; l et m : *J. striatus*, Fettouvaia, Ile d'Elbe, respectivement IM-2013-32670 et IM-2013-32668; n : *J. cf. striatus*, Cabos de Palos; IM-2013-32869; o: *J. karpathoensis*, mer Egée, Néo Peramos, IM-2013-32755..... 77

Figure 11. Localisation du matériel séquencé et discuté dans le complexe *Ocinebrina edwardsii*. 1 : Dakhla (Maroc), 2: Tenerife (I. Canaries), 3: Gove (Espagne), 4: Bayona (Espagne), 5: Vigo

(Espagne), 6: Peniche (Portugal), 7 : Off Ponta da Piedade (Portugal), 8: Barbate (Espagne), 9: Benalmadena (Espagne), 10: Calahonda (Espagne), 11: Corse, 12: Santa Marina (Sardaigne), 13: Cagliari (Sardaigne), 14: Bizerte, (Tunisie) 15: Lampedousa, 16: Kerkennah et Sfax (Tunisie), 17: Djerba (Tunisie), 18: Bacoli (Italie), 19: Zannone (Italie), 20: Palinuro (Italie), 21: Cefalu (Sicile), 22: Marittimo (Sicile), 23: Punta Mugnone (Sicile), 24: Marzamemmi (Sicile), 25: Siracuse (Sicile), 26: Augusta (Sicile), 27: Marina Di Schio vonia (Italie), 28 : Campomarino (Italie), 29: Galippoli (Italie), 30: Lagune de Venise (Italie), 31: Pellestrina (Italie), 32: Muggia (Italie), 33: Umag (Croatie), 34: Punta Criza (Croatie), 35: Murter (Croatie), 36: Pugniochiuso (Italie), 37: Kavala (Grèce), 38: Limnos (Grèce), 39: Milos (Grèce), 40: Lygaria (Crète). 157

Figure 12. Phylogénie moléculaire chez le genre *Ocinebrina* (Gastropoda: Muricidae) produite par des analyses d'inférence bayésienne du gène COI. Les PP < 50% ne sont pas représentées. 9 lignées (1-15) sont délimitées et bien supportées par les analyses phylogénétiques. 158

Figure 13. Diversité cryptique au sein du complexe *Ocinebrina edwardsii* selon l'identification morphologique primaire. a: *O. piantonii*, golfe de Gabès; b: *O. carmelae*, golfe de Gabès; c: *O. edwardsii*, Agusta, Italie; d: *O. edwardsii*, Kavala, Grèce; e: *O. edwardsii*, Kavala, Grèce; e: *O. edwardsii*, Limnos, Grèce; f-g: *O. hispidula*, Djerba; h: *O. edwardsii*, Tenerife, I. Canaries; i: *O. edwardsii*, Peniche, Portugal; j: *O. leukos*, Tenerife, Espagne; k-o: *O. edwardsii*, Porto Vecchio (k), Bizerte (l-o); p: *O. nicolai* sensu Rolán, Vigo, Espagne; q: *O. edwardsii*, Puzzuoli, Italie; r: *O. edwardsii*, Murter, Croatie; s: *O. ingloria*, Lagune de Venise; t: *O. edwardsii*, Puzzuoli, Italie. 160

Figure 14. Localisation du matériel séquencé dans le genre *Muricopsis*. 188

Figure 15. Phylogénie moléculaire du genre *Muricopsis* produite par des analyses d'inférence bayésienne du gène COI. Les PP < 50% ne sont pas représentées. Cinq lignées (C1- C5) sont délimitées et bien supportées par les analyses phylogénétiques. 189

Figure 16. Variabilité morphologique et diversité cryptique au sein du genre *Muricopsis*. a-d: *Murexul cevikeri*, mer Egée, Halkidiki, Marmaros, (a-b) IM-2013-32757, (c-d) IM-2013-32758; e-j: *Muricopsis cf. cristata*, La Ciotat, Calanque de Figuerolles, (e-f) IM-2013-32741, (g-h) IM-2013-32739, (i-j) IM-2013-32740; k-l: *Muricopsis cf. cristata*, mer Egée, Astypalea, IM-2013-32685; m-o: *Muricopsis sp.*, Djerba Sidi Jmour, (m-n) IM-2013-31946, (o) IM-2013-31945; p: *Muricopsis sp* Djerba, Borj Djellij; IM-2009-31784. 190

Figure 17. Courbe du niveau marin durant le Quaternaire montrant que le niveau actuel est exceptionnel à l'échelle de cette période. D'après Eric Grossman (consulté juin 2016) www.soest.hawaii.edu/ericg/eg_res.html (modifié). 197

Figure 18. Carte bathymétrique du golfe de Gabès. Extrapolés aux bas niveaux eustatiques du Quaternaire, les isobathes représentés (-20, -50, -100, -200 m) montrent l'importance du plateau continental quel que soit l'ampleur de la régression marine. 198

Figure 19. Sur cette carte est figuré en gris foncé le plateau continental à la limite des – 100 m. Le golfe de Gabès possède avec le nord de l'Adriatique le plateau le plus étendu de la Méditerranée. Les cercles bleus indiquent les principales aires à espèces endémiques (Gofas 1998, détroit de Gibraltar; Sabelli & Taviani 2014, Nord Adriatique, mer Egée); une endémicité importante est maintenant

documentée dans le golfe de Gabès (cercle rouge) et la présence de plusieurs endémiques est confirmée en mer Egée..... 200

Figure 20. Proportions d'Espèces Non Indigènes observées dans quelques pays méditerranéens en rouge les espèces introduites via le canal de Suez (source Galil *et al.* 2015)..... 202

Figure 21. Evolution du couvert végétal du golfe de Gabès entre 1925 et 2011: A: (Le Danois 1925); B: (De Gaillande 1970b modifié); C: (Darmoul 1988 modifié), D: (Lahbib *et al.* 2011). 204

Liste des tableaux

Tableau 1. Comparaison de la malacofaune entre différentes régions de la Méditerranée.....31

Tableau 2. Liste des taxons décrits dans le golfe de Gabès.....32

Liste des encadrés

Encadré 1: Variations de la température des eaux de surface et de la production primaire entre les bassins de la Méditerranée.....19

Encadré 2: Histoire géologique de la faune méditerranéenne.....21

Encadré 3. La circulation générale en Méditerranée.....25

Encadré 4 Les prairies à Posidonies dans le golfe de Gabès de 1925 à 2011.....202

Articles issus de cette thèse

Article 1/ Article publié

C. Aissaoui, N. Puillandre, & P. Bouchet (2016) New insights in the taxonomy of Mediterranean *Diodora* (Mollusca, Gastropoda, Fissurellidae), *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*

Article 2 / Article sous-presse

C. Aissaoui, N. Puillandre, P. Bouchet, G. Fassio, M. Vittoria Modica & M. Oliverio (2016) Cryptic diversity in Mediterranean gastropods of the genus *Aplus* (Neogastropoda, Buccinidae), *Scientia Marina*

Article 3 / Article accepté (avec corrections mineures)

C. Aissaoui, N. Puillandre, L.A. Galindo & P. Bouchet (2016) The nassariids from the Gulf of Gabès revisited (Neogastropoda, Nassariidae) *Marine Biology Research*

Article 4 / Article soumis

A. Barco, C. Aissaoui, R. Houart, G. Bonomolo, F. Crocetta, & M. Oliverio (2016) The identity of the type species of the small mussel drills genus *Ocinebrina* Jousseaume, 1880 (Mollusca: Gastropoda: Muricidae), with the description of a new species, *Journal of Molluscan studies*.

Congrès

Congrès 1

C. Aissaoui, N. Puillandre, P. Bouchet. Poster: The Gulf of Gabès (southern Tunisia): center of Mediterranean endemism or ecophenotypic variations in extreme conditions? *First Young Natural History Scientists Meeting, MNHN*, 4-6/2/2015.

Congrès 2

C. Aissaoui, N. Puillandre, P. Bouchet. Communication orale: The Gulf of Gabès (southern Tunisia): center of Mediterranean endemism or ecophenotypic variations in extreme conditions? *Systematic Association Biennial, University of Oxford*, 26-28/8/2015.

Congrès 3

C. Aissaoui, N. Puillandre, P. Bouchet. Communication orale: The Gulf of Gabès (southern Tunisia): center of Mediterranean endemism or ecophenotypic variations in extreme conditions? *International Congress on "Biodiversity, Mediterranean, Society", Siracusa, Italie*, 4-6/9/2015.

CHAPITRE I

CONTEXTE ET PROBLEMATIQUE

"Un demi-savoir est plus dangereux que l'ignorance"
Pierre-Claude-Victor Boiste

Introduction

La Méditerranée, du latin *Medius-terrea* qui signifie « au milieu de la terre » est définie par les océanographes comme une étendue d'eau salée engagée dans l'intérieur du continent, bordée par les côtes d'Afrique, d'Europe et d'Asie. Elle est enserrée dans des reliefs tourmentés et elle communique avec l'océan mondial par un ensemble de détroits : détroit de Gibraltar avec l'Atlantique à l'ouest, les détroits des Dardanelles et du Bosphore avec la mer Noire à l'est et le canal de Suez avec la mer Rouge au sud. La mer Méditerranée apparaît comme une petite mer tempérée subdivisée en deux bassins, occidental et oriental, séparés par le détroit de Sicile; une crête, à 400 m de profondeur, qui sépare l'île de la Sicile de la côte tunisienne. Chacun de ces deux bassins est compartimenté en plusieurs sous-bassins: les mers d'Alboran, Adriatique, Tyrrhénienne et le bassin Algéro-provençal composent le bassin occidental ; les mers Egée et Ionienne, et le bassin Levantin composent le bassin oriental.

La mer Méditerranée, ne représentant que 0,7% de la surface totale des océans, est considérée comme un hotspot de la biodiversité marine comprenant plus de 17000 espèces ce qui correspond à 7,5% de la biodiversité marine totale du monde (Coll *et al.* 2010, Danovaro *et al.* 2010). Sabelli & Taviani (2014) attribuent cette richesse, relativement élevée, à son histoire géologique complexe: périodes de glaciations durant le Quaternaire, ouverture et fermeture du détroit de Gibraltar, Crise de Salinité Messinienne, sa position géographique et sa topographie ainsi que son régime hydrologique particulier (Taviani 2002, Sardà *et al.* 2004, Danovaro *et al.* 2010). La mer Méditerranée constitue un modèle d'océan réduit renfermant tous les types d'écosystèmes, côtiers et océaniques. C'est une mer qui se caractérise par des gradients environnementaux très forts avec une extrémité orientale, à salinité plus forte, beaucoup plus oligotrophe que l'occidentale (Encadré 1, Fig. 1) à cause d'une évaporation plus importante. L'eau entrant de l'Atlantique, à plus faible salinité, se réchauffe à l'Est et devient plus salée, elle coule vers le bassin Levantin puis circule à l'Ouest avant de sortir par le détroit de Gibraltar (Sammari *et al.* 2002). La baisse de la production primaire du Nord au Sud et de l'Ouest à l'Est est inversement proportionnelle à l'augmentation de la température et de la salinité aux gradients croissants d'Ouest en Est et du Nord au Sud. La Méditerranée est une mer profonde caractérisée par une homéothermie de fond (300-500m) où la température varie entre 14 et 15°C et la salinité de 37,5 à 39 PSU (Sabelli & Taviani 2014); contrairement à l'Atlantique où la température diminue en fonction de la profondeur. Plus au Sud, les plateaux continentaux (marocains, algériens et les côtes libyennes), à l'exception du

Encadré 1: Variations de la température des eaux de surface et de la production primaire entre les bassins de la Méditerranée

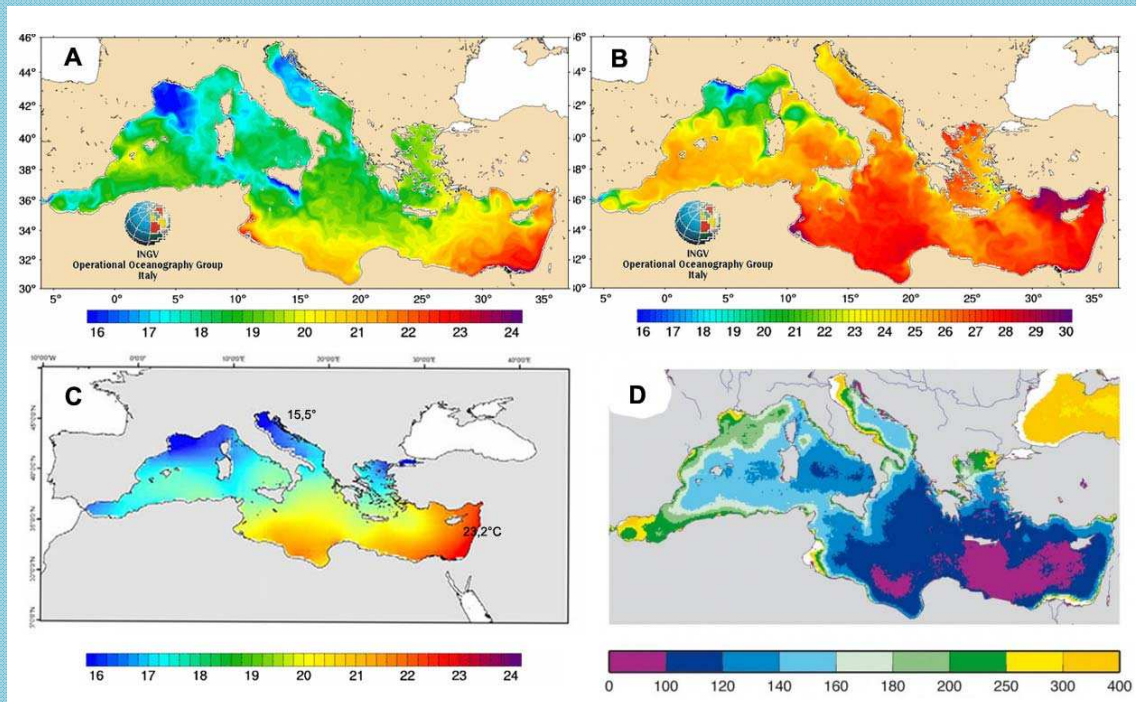


Figure 1. Variation de la température des eaux de surface : A : en Mai; B: en Juillet; C : moyenne annuelle (Operational oceanography group Italy, INGV 2012) (minimum et maximum indiqués). D : Variation annuelle de la production primaire ($\text{gC}/\text{m}^2/\text{an}$), Lab. d'Océanographie de Villefranche.

Les courants de surface sont pilotés par la température mais aussi la salinité. L'hydrodynamisme de la Méditerranée est très complexe. La Méditerranée est une mer tempérée chaude dont la température annuelle moyenne de ses eaux de surface est comprise entre 16 et 22,5°C. Les mesures satellitaires de la température montrent des contrastes régionaux importants. Le bassin oriental est toujours plus chaud donc plus salé que le bassin occidental qui garde globalement des eaux assez froides et moins salées influencées par le courant atlantique. Le nord adriatique présente une exception dans son côté oriental présentant des eaux froides (15°C) très semblables à celles enregistrées dans le golfe de Lion. Dans certaines régions à morphologie particulière (peu soumises à l'influence de l'Atlantique) comme le golfe de Gabès, le golfe de Syrte, le bassin Levantin on enregistre les températures les plus élevées durant toute l'année (>22,5°C).

La moyenne annuelle de la production primaire indique une variation inversement proportionnelle à la variation de la température et de la salinité. Le bassin oriental est une zone de faible production et les secteurs les plus productifs sont la mer d'Alboran, la mer Ligure et les zones côtières. La Méditerranée est notamment pauvre en éléments nutritifs car que le brassage vertical de ses eaux est insuffisant (faible amplitude des marées). Le manque de brassage produit une transparence des eaux ce qui facilite la photosynthèse jusqu'à une profondeur d'une centaine de mètres (Sabelli & Taviani 2014). Ce phénomène, s'ajoutant à ces caractéristiques physiques et océanographiques, conduit à une grande diversité biologique avec un fort endémisme (Lassram *et al.* 2009).

A noter que la Méditerranée figure parmi les zones sensibles aux changements climatiques. Les effets attendus sont particulièrement importants et les impacts environnementaux et socio-économiques risquent d'y être très prononcés (Coll *et al.* 2010).

golfe de Gabès, sont étroits. En revanche au Nord de l'Adriatique, dans la mer Egée et le golfe du Lion, les plateaux sont plus larges.

La faune méditerranéenne actuelle se compose d'un mélange d'espèces aux origines biogéographiques variées et plus ou moins anciennes. C'est le résultat de différenciations locales à partir des espèces ancestrales et de multiples migrations, surtout Atlantique, répétées au fil du temps. Une influence alternative des différentes invasions du Nord et du Sud de l'Atlantique est attestée (Sabelli & Taviani 2014). L'origine des espèces marines méditerranéennes serait donc majoritairement atlantique.

L'histoire géologique particulièrement mouvementée de cette région, et les fortes variations climatiques survenues depuis 10 millions d'années, constituent des facteurs clés pour expliquer cette forte biodiversité hétérogène (Encadré 2, Fig. 2). Cette faune est répartie aujourd'hui selon des conditions hydrologiques locales particulières. Le bassin oriental accueille, surtout dans sa partie sud plus chaude et salée, une faune subtropicale atlantique appelée « faune chaude » alors que le bassin occidental, plus frais et moins salé, et sous l'influence directe du courant atlantique, se caractérise par une faune dite « faune froide » (Ben Othman 1971, 1973 ; Quignard & Ben Othman 1978). La faune du golfe de Gabès, par sa position géographique à la charnière des deux bassins et qui reçoit une branche annexe du courant atlantique, a été considéré comme une « faune de relais » (Ben Othman 1971). Différentes phases de colonisations peuvent s'être succédées dans ce golfe pendant les périodes chaudes inter-glaciales du Quaternaire mais la composition actuelle s'est mise en place après la dernière glaciation du Würm (entre 10.000 et 9.700 MA) (Sabelli 1980; Taviani 2002; Sabelli & Taviani 2014). Il est souvent argué que les espèces ont colonisé les espaces rendus disponibles à chaque recul des épisodes glaciaires à partir de différents refuges (Sabelli & Taviani 2014 ; Danovaro *et al.* 2010). En effet, les conditions environnementales particulières dans certaines régions de la Méditerranée ont grandement influencé les dynamiques des migrations et les isolements successifs de la faune marine auraient permis l'émergence de nouvelles espèces.

Encadré 2: Histoire géologique de la faune méditerranéenne

A l'échelle du Cénozoïque, la Méditerranée apparaît comme un vestige de l'ancienne Téthys et des échanges entre la Méditerranée et la Téthys orientale (pré-Indo-Pacifique) ont perduré jusqu'à la base du Miocène moyen. A noter que la plupart des genres présents actuellement en Méditerranée sont connus dès le Miocène inférieur (voir à l'Oligocène supérieur) dans la Téthys occidentale (Sabelli 1980; Taviani 2002; La Perna 2005; La Perna & d'Abramo 2011; Sabelli & Taviani 2014; Lozouet 2014). L'interruption des communications entre Téthys orientale et la Téthys occidentale a conduit à l'installation de courants longitudinaux le long des côtes atlantiques européennes et ouest-africaines et favorise le développement d'une faune atlanto-méditerranéenne. Au cours du Miocène une vaste province s'étendait du Nord de l'Europe à l'Afrique de l'Ouest et incluait la Méditerranée (Lozouet 2014). A la fin du Miocène, le soulèvement de différentes zones du détroit de Gibraltar provoque l'interruption des communications entre l'Atlantique et la Méditerranée avec comme conséquence l'assèchement de cette mer. Au début du Pliocène, l'eau atlantique entre de nouveau en Méditerranée par une cataracte géante. La Méditerranée est réensemencée par une faune marine atlantique à caractère subtropical (Taviani *et al.* 1991). L'Italie, les côtes nord-africaines sont submergées. Au Quaternaire (vers 2,6 MA), débute les premières importantes glaciations et la succession de périodes glaciaires et interglaciaires conduit à l'alternance de faunes froides dite boréales et de faunes tempérées chaudes voire subtropicales. Ainsi, lors de l'épisode interglaciaire MIS 5 (Eémien « Tyrrhénien », vers -120000 ans), les côtes tunisiennes sont envahies par les « Strombes » (les fameux dépôts de Monastir). Le *Strombus galus*, *Strombus bubonius* des anciens auteurs, actuellement répandu entre le Sénégal et le Nord de l'Angola y foisonne. Il est à noter que durant les importantes glaciations, le niveau marin diminue fortement; on estime sa baisse entre -120 et -130 m lors de l'épisode MIS 2 (Weichlien « Würm », - 25000 ans, dernier maximum glaciaire). Ces régressions marines conduisent à l'assèchement régulier d'une bonne partie du plateau continental de certaines régions (dont le golfe de Gabès, le golfe de Syrte, la mer Adriatique, la mer Egée...). L'Holocène, notre inter-glaciaire, a débuté il y a moins de 12000 ans.

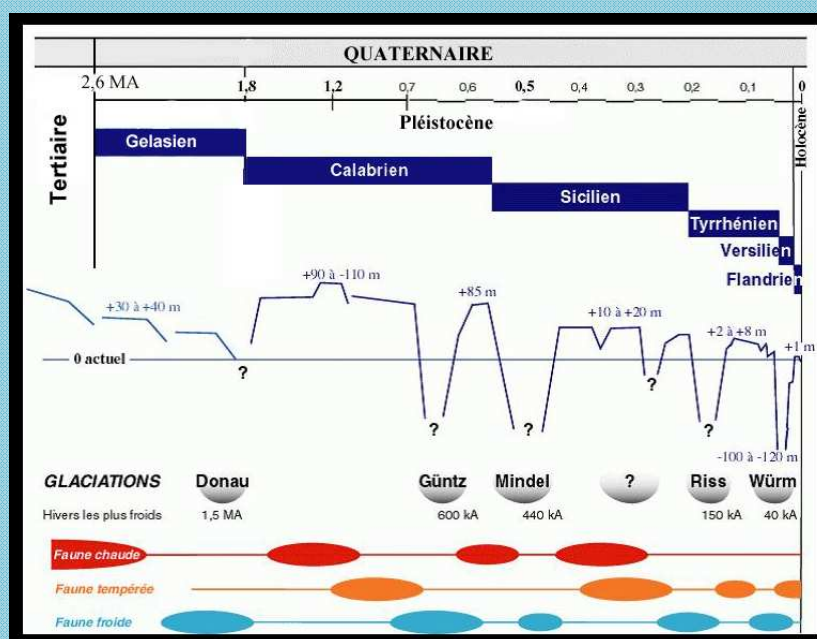


Figure 2. Principales phases de succession des faunes en mer Méditerranée durant le Quaternaire (ancienne terminologie en partie conservée et limite du Quaternaire modifiée; d'après Laubier & Emig 1993 ; Emig & Geistdoerfer 2004).

Actuellement, cette mer semi-fermée est fragilisée et sa biodiversité est menacée. Elle se trouve sous diverses influences qui agissent en synergie (réchauffement climatique, perte d'habitats, pollution, surpêche, ...) et perturbent les équilibres écosystémiques (Hattab *et al.* 2013). De plus, l'accroissement particulièrement important d'espèces invasives constitue aujourd'hui un facteur crucial qui va modifier la biodiversité et l'originalité de cette mer. Cette invasion est favorisée par le réchauffement climatique et pourrait entraîner la perte des spécificités des communautés méditerranéennes (Galil *et al.* 2014; Lozouet 2014). Ces espèces viennent de plusieurs mers mais surtout de la mer Rouge (invasion dite «Lessepsienne») à travers le canal de Suez (Fig. 3). Plusieurs études génétiques montrent l'existence maintenant d'un flux génétique entre les populations de la mer Rouge et de la Méditerranée (Golani & Ritte 1999; Hassan *et al.* 2003; Bariche & Bernardi 2003)

Biogéographiquement, le golfe de Gabès appartient à la vaste région Tempérée Est Atlantique qui s'étire de la Mauritanie à la Norvège. Dans cet ensemble les biogéographes distinguent une sous-province Méditerranéenne, elle-même intégrée à la province Lusitanienne (ou Atlanto-Méditerranéenne) (voir Fig. 3).

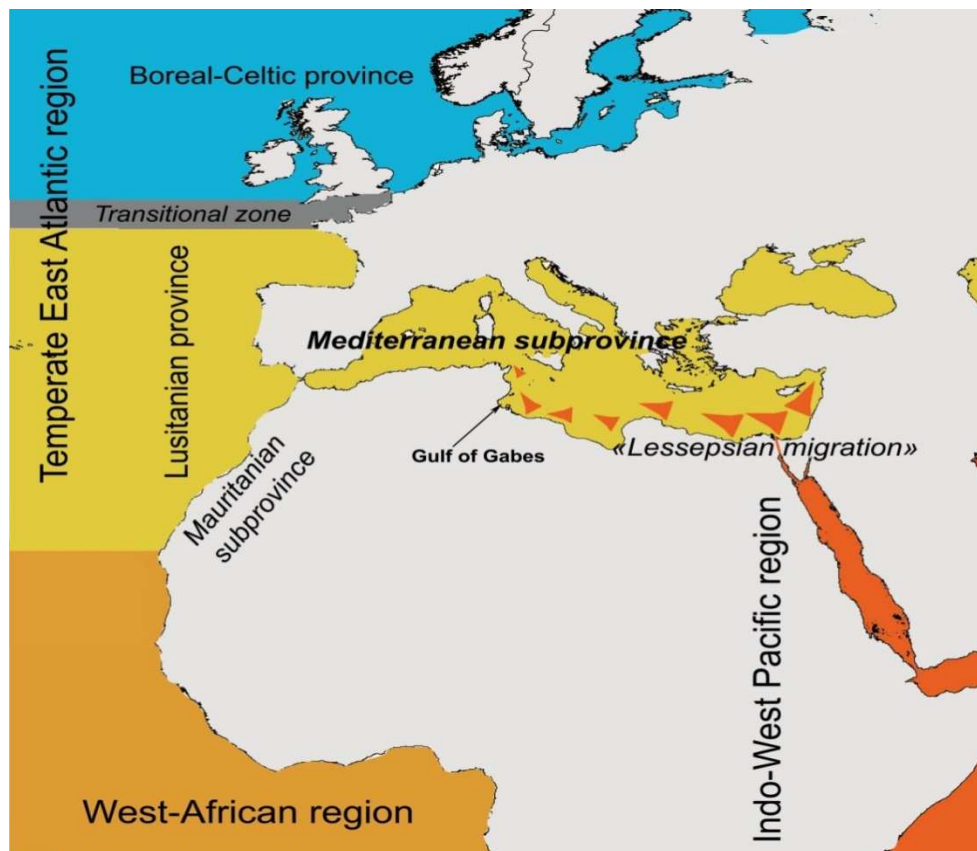


Figure 3. La biorégion Tempérée Est Atlantique et l'invasion des espèces de la mer Rouge «Migration Lessepsienne» (D'après Gofas *et al.* 2011a, Lozouet 2014).

1.1 Le golfe de Gabès au sein de la Méditerranée

Le golfe de Gabès, un milieu relativement fermé, constitue par sa géomorphologie un écosystème particulier de la Méditerranée. C'est l'une des régions à forte production primaire (Barale 2004) avec une grande importance socio-économique (Drira 2006). Il apparaît aussi comme un pôle de biodiversité (Sabelli & Taviani 2014 ; Ben Mustapha 2002; Cecalupo *et al.* 2008). Plusieurs auteurs, dont Drira (2006) considèrent le golfe de Gabès comme un modèle réduit de la mer Méditerranée en raison des nombreuses perturbations qui l'affectent et en font l'archétype des tendances rencontrées dans cette mer. Le golfe de Gabès jouit des conditions climatiques, topographiques, géomorphologiques et océanographiques particulièrement favorables au développement d'un riche écosystème littoral (Afli & Ben Mustapha 2004; Cecalupo *et al.* 2008; Sabelli & Taviani 1980; Ghizotti 1972a).

1.1.1 Géographie, géomorphologie, sédimentologie et climatologie du golfe de Gabès

Le golfe de Gabès occupe une situation géographique privilégiée au centre de la Méditerranée, à la jonction entre les bassins oriental et occidental. Cette région du Sud-Est de la Tunisie, est bordée au Nord par la Sicile et limitée à l'Est par la fosse ionienne ; formant l'unité « Tunisie Orientale-Sicile » reconnue par Castany (1955). C'est à la partie méridionale de cette unité que se situe le golfe de Gabès qui s'étend vers l'Est jusqu'aux frontières tuniso-libyennes. Le golfe de Gabès était nommé par les anciens navigateurs "Petite Syrte" par comparaison aux côtes cyrénaïques libyennes qui constituent la « Grande Syrte » (Baradai *et al.* 2005). Malgré une morphologie côtière proche de la « Petite Syrte », il se distingue de sa voisine par la grande largeur et la faible déclivité de son plateau continental, les fonds à 200 m de profondeur se situant à 250 Km de la côte (Ben Othman & Quignard 1978). Le golfe de Gabès constitue plus de la moitié des côtes tunisiennes environ 700 km de littoral (Drira 2006). Le plateau continental, étendu avec sa pente douce non interrompue, constitue la caractéristique majeure du golfe. Il s'agit d'une topographie simple marquée par des hauts-fonds sablo-vaseux et parcourue par des chenaux ou bien par des dômes et des cuvettes. Le marnage y est, avec la Haute Adriatique, le plus important de la Méditerranée (Zaouali 1993).

Cette région présente un climat pré-Saharien aride à semi-aride avec une faible pluviométrie (Drira 2006) et une température élevée oscillant entre 41 et 48°C (Amari 1984). Sous ces effets climatiques, on assiste à une intense évaporation ce qui conduit à l'augmentation de la salinité qui oscille entre 38 et 39 PSU (Hamza 2003; Braudhorst 1977)

mais aussi des phénomènes de réchauffement ou de refroidissement des eaux (Seurat 1929; Hamza 2003) accentués par le voisinage des eaux profondes (Sammari *et al.* 2006).

Le golfe de Gabès a été qualifié de nurseries et de pépinières de la Méditerranée (Hattour, 1991; Hattour *et al.* 1995). Il est en grande partie recouvert de sédiments meubles, sableux, vaseux et carbonatés (Burrolet 1979). Dans cette région à sédimentologie sableuse, calme, riche en végétations jusqu'à 20 m de profondeur, s'accumule la matière organique ce qui accélère les dépôts des agents polluants (Drira 2006; Hamza 2003). La granulométrie au voisinage des herbiers est très fine (Ktari Chakroun & Azouz 1971; Darmoul 1988; Zaouali 1993; De Gaillande 1970a). Cette structure sédimentologique conduit à des phénomènes d'envasement (Molinier & Picard 1954) et à l'instabilité des facteurs édaphiques influençant la nature des biocénoses et leurs répartitions (Hamza 2003; Darmoul 1988; Drira 2006).

1.1.2 Océanographie de la région du golfe de Gabès

La circulation des eaux le long des côtes tunisiennes est sous l'influence de divers processus hydrodynamiques locaux (upwellings, courants côtiers, etc.) et d'autres à échelle plus large ; comme la circulation générale des eaux et les courants de la marée connues dans la Méditerranée. La compréhension de la circulation côtière constitue depuis longtemps un élément primordial pour l'élaboration d'un système de gestion durable du littoral (Hattour, 1991). Pour comprendre les particularités hydrodynamique et hydrologique côtières au niveau du golfe de Gabès, il est nécessaire de préciser la circulation générale dans la Méditerranée (Encadré 3, Fig. 4).

Le golfe de Gabès présente certains paramètres hydrologiques qui le distingue des autres régions de la méditerranée. Ainsi, l'amplitude des marées est considérée comme étant la plus importante au niveau de la Méditerranée avec un maximum de 2 m (Cecalupo *et al.* 2008). Les mouvements hydrodynamiques au niveau de cette région ont été étudiés par Brandhost (1977) en se basant sur la distribution horizontale de la salinité. L'écoulement de l'eau atlantique le long des côtes tunisiennes est fortement influencé par la complexité de la dynamique des courants locaux qui sont à la base de l'isolement du golfe de Gabès. Ainsi, le fort courant entrant du détroit de Gibraltar passant par la côte africaine en direction Est, s'oriente vers le Sud en arrivant au Cap Bon. Ce courant se subdivise par la suite en deux branches au niveau de l'Ile de Lampedusa, la première s'oriente vers le Sud-Est laissant l'île vers l'Ouest et l'autre se dirige vers le Sud-Ouest. Ce dernier se subdivise en deux sous-branches, l'une s'enroule autour de Djerba en alimentant la circulation au niveau du golfe de Gabès et l'autre se dirige vers les côtes libyennes, toujours en sens antihoraire.

Encadré 3. La circulation générale en Méditerranée

Selon Miller et Stanley (1965), la Méditerranée renferme une eau relativement dense qui occupe 70% de la totalité du bassin pour s'écouler, finalement, vers l'Atlantique. La circulation des flux au niveau du détroit de Gibraltar se caractérise par des mouvements de sens opposés. Ceci est dû à des gradients horizontaux de pression dirigés vers la Méditerranée dans la couche de surface et vers l'Océan dans la couche profonde (Sammari *et al.* 2002). La distribution spatiale verticale de la densité montre un mouvement généralement orienté vers l'Est, dans les couches de surface, et un mouvement dirigé vers l'ouest dans les couches intermédiaires. Cependant, différents mouvements hydrodynamiques cycloniques dans les différents sous bassins sont générés par la force de Coriolis. Ces mouvements commencent à partir du détroit de Gibraltar pour les eaux de surface, par le bassin Nord-Est Levantin pour les eaux intermédiaires puis finalement par les différentes régions d'eaux profondes comme le golfe de Lion. Au niveau des eaux de surface, on observe des exceptions correspondant à des mouvements anticycloniques à l'Ouest de la mer d'Alboran, au niveau des côtes algériennes et dans le golfe de Syrte. Il existe, aussi, plusieurs tourbillons dans la partie centrale des différents bassins particulièrement dans le bassin Ionien. Le cheminement et les mouvements hydrodynamiques de l'eau d'origine atlantique présente une forte variabilité spatiale et temporelle entre les différents sous-bassins méditerranéens (Ovchinnikov 1966). La veine d'eau d'origine atlantique, entre le détroit de Gibraltar et le canal de Sicile, présente une circulation différente selon que l'on se trouve au large des côtes marocaines, algériennes ou tunisiennes (Sammari *et al.* 2002). A l'Ouest, cette circulation est relativement stable et étroitement liée à la géographie du détroit de Gibraltar et de la mer d'Alboran. A la sortie de cette mer, la circulation est, pratiquement en permanence, dirigée des côtes espagnoles (2° W) vers les côtes algériennes (1° W) puis elle devient instable en se dirigeant vers l'Est le long de la côte africaine à partir de 1-2° E (Millot 1985). Des tourbillons cycloniques et anticycloniques apparaissent (Fig. 4); les tourbillons dérivent vers l'Est et seuls les anticycloniques croissent jusqu'à atteindre un diamètre de l'ordre de 100 km. Ils s'éloignent ensuite de la côte pour atteindre des dimensions de plus de 200 km et revenir vers la côte, pour interagir avec la veine de courant. Ces tourbillons devraient conditionner fortement la circulation le long des côtes tunisiennes (Taupier-Letage & Millot 1987).

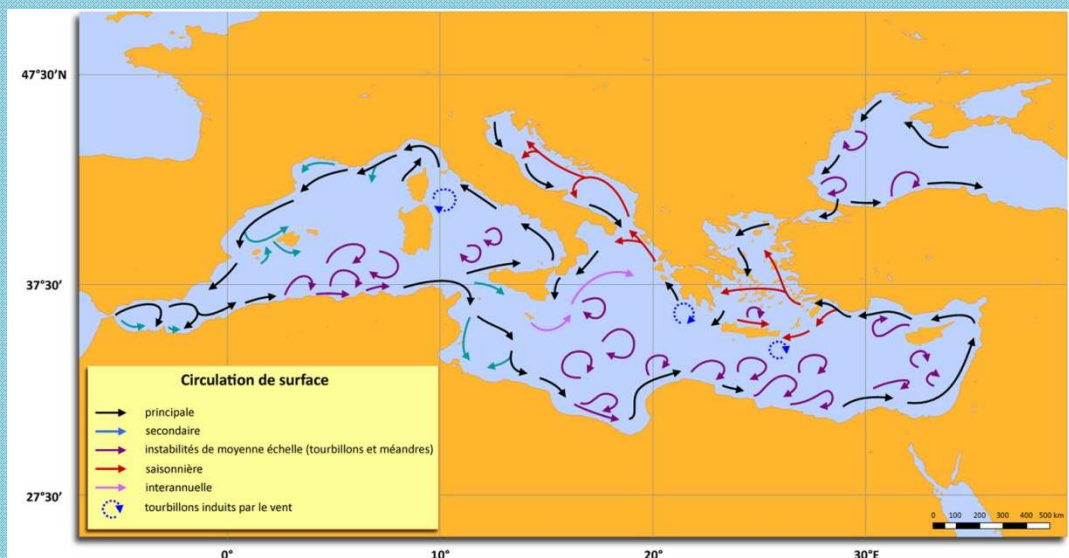


Figure 4. Circulation générale de surface dans la mer Méditerranée (d'après Millot & Taupier-Letage 2005).

La circulation hydrodynamique locale cyclonique permanente (Ovchinnikov 1966; Lacombe & Tchernia 1972) limite l'échange des qualités physico chimiques avec le canal de Sicile. La marée au niveau du golfe de Gabès est semi diurne avec deux périodes ; basse mer et haute mer en 24 heures. L'amplitude maximale de la marée est de 2 m (Serbaji 2000) en période de vives eaux alors que l'amplitude en période de mortes eaux est de l'ordre de 0,3 m (Sammari *et al.* 2006).

Grâce à la topographie de son plateau continental, le golfe de Gabès se réchauffe vite. En hiver, il profite de la chaleur de la colonne d'eau (Drira 2006) et à cause de sa faible profondeur le golfe se trouve en contraste thermique avec les eaux peu profondes des régions qui l'entourent. Ce type de phénomène se produit aussi en été, lorsque le brassage dans les eaux côtières est plus facile que dans les eaux plus profondes (Sammari *et al.* 2002). Ce phénomène a été observé dans diverses régions de la Méditerranée, notamment dans l'Adriatique (Bignami *et al.* 1990a; 1990b), en mer de Ligure et en mer Egée (Sammari *et al.* 2002).

1.2 Aperçu sur la biodiversité du golfe de Gabès

Au niveau mondial, les régions ayant une très grande richesse spécifique, notamment en espèces endémiques, ont été identifiées comme des points chauds ou *hotspots* de la biodiversité (Myers *et al.* 2000). Ces régions correspondent, généralement aussi, à des zones sur lesquelles pèsent de lourdes menaces du fait d'une anthropisation galopante (Sabelli & Taviani 2014). Dans cette vision élargie et modernisée de la biodiversité, il nous a semblé nécessaire - sinon urgent - d'illustrer ces réflexions en analysant la biodiversité malacologique marine de l'un des écosystèmes littoraux le plus fascinant de la mer Méditerranée mais aussi le plus menacé: le golfe de Gabès. Ainsi, et faute d'inventaires actualisés, l'évaluation de la biodiversité marine reste toujours subjective.

1.2.1 L'herbier à *Posidonia oceanica*

La zone du golfe de Gabès et du golfe de Syrte, en Libye, abritent la plus grande biocénose à *Posidonia oceanica* du monde (Arnaud-Haond *et al.* 2012). Cette biocénose s'installe dans la frange littorale depuis le rivage jusqu'à la limite inférieure de l'infra-littoral (Ben Mustapha *et al.* 1992). Elle contribue substantiellement aux différents processus écologiques, sédimentaires et économiques (Pergent-Martini *et al.* 2005) dont :

(i) l'oxygénation de l'eau (Augier 1986; Alcoverro *et al.* 1998),

- (ii) une haute productivité (considérée comme la plus élevée en Méditerranée; Pergent *et al.* 1994; Bellan-Santini *et al.* 1994; Templado 2004),
- (iii) grand pôle de diversité biologique et source de débris fiables pour les écosystèmes adjacents,
- (iv) refuge prioritaire et habitat type pour un assemblage très diversifié d'espèces de petites tailles (Sabelli *et al.* 2011; Bellan-Santini *et al.* 1994; Francour *et al.* 1997; Boudouresque, 2004; Hattour & Ben Mustapha 2013).

Enfin, les herbiers de Posidonie sont essentiels pour la stabilité des rivages sablonneux et des fonds marins (Bellan-Santini *et al.* 1994; Hattour & Ben Mustapha 2013) et jouent un rôle de nurseries pour les juvéniles de la faune marine (Hattour & Ben Mustapha 2013).

1.2.2. Le golfe de Gabès: pôle de biodiversité malacologique marine et centre de spéciation

Le golfe de Gabès constitue un écosystème naturel remarquable et unique pour étudier les processus récents de colonisation et de spéciation (Sabelli 1980; Sabelli & Taviani 2014; Cecalupo *et al.* 2008; Ghizotti 1972b) en particulier l'endémisme ou le néo-endémisme. L'endémisme est le phénomène par lequel une espèce ou un groupe taxonomique est strictement inféodé à une aire biogéographique donnée, généralement de surface restreinte, dans laquelle il s'est différencié par suite de l'existence de conditions écologiques spéciales propres à l'aire considérée (Ramade 2002). On distingue deux types d'endémisme: (i) un paléo-endémisme lorsque l'espèce, anciennement répartie sur des aires plus importantes, et (ii) un néo-endémisme lorsque l'aire de distribution de l'espèce se limite à une surface plus ou moins faible correspondant à la zone où la forme a pris naissance (Whitaker 1998).

Associé à ces concepts, un centre d'endémisme désigne une région biogéographique où l'on aurait répertorié un nombre conséquent d'espèces endémiques. Parmi les régions méditerranéennes à taux d'endémisme significatif, figure aux premières places le golfe de Gabès dont au moins 7% de sa faune malacologique serait endémique (Sabelli 1980; Ghizotti 1972; Cecaluppo *et al.* 2008).

Pour distinguer les phénomènes de spéciation qui pourraient être à l'origine de l'endémisme et mettre en évidence l'importance relative de ce phénomène en Méditerranée, nous avons étudié la structuration génétique de certains mollusques du golfe de Gabès aussi bien:

- au niveau intra-spécifique, afin de comprendre la connectivité inter populationnelle,
- au niveau interspécifique, pour repérer les lignées évolutives en divergence récente.

L'isolement et la connectivité des organismes sont en forte relation avec la dispersion larvaire (Castelin 2008). Or, les gastéropodes constituent un excellent proxy pour apprécier les phénomènes d'isolement géographique car, chez ces organismes, les capacités de dispersion larvaire peuvent se déduire à partir de la simple observation de la morphologie de leur coquille larvaire (Bouchet & Warén 1980, 1994). La taille, la structure et la sculpture des protoconques reflètent, en effet, les différentes étapes du développement larvaire. Ainsi, à partir de cette protoconque, on peut déduire le type de développement larvaire des espèces et émettre, ainsi, des hypothèses primaires sur leurs capacités de dispersion (Castelin 2008). Ces attendus primaires peuvent être ensuite testés par des analyses génétiques des populations.

1.2.3 L'exploration malacologique dans le golfe de Gabès: historique et liste des taxons

La malacofaune du golfe de Gabès est traitée depuis longtemps dans différents travaux, notamment ceux de Monterosato (1880), Dautzenberg (1883, 1911), Pallary (1904, 1906), Seurat (1924, 1929, 1934), Gaillonde (1970a, 1970b), Ktari-Chakroun & Azouz (1971). C'est sur la base de ces travaux que Ghisotti (1972a, b) a établi un premier inventaire avec une indication des provenances pour 469 espèces. Les travaux de Rosso (1978, 1979), Buzzurro & Russo (2005) ont apporté des compléments intéressants qui ont permis à Cecalupo *et al.* (2008) de dresser un nouvel inventaire complété par Cossignani *et al.* (2011).

Selon ces travaux, il y aurait au moins 584 espèces de mollusques peuplant le golfe de Gabès, dont une majorité de gastéropodes avec 406 espèces et seulement 157 espèces de bivalves. Cette faune malacologique est nettement plus riche que celles d'autres secteurs de la Méditerranée (Barcelona, Valencia, Algesiras, Procida (Naples), Shylla (Calabre), Nord de l'Adriatique, îles Tremiti, Kotor, Golfe de Trieste). Elle est comparable à celle de la mer d'Alboran et de Chypre mais moins riche que celles des régions mieux étudiées comme la Toscane, en Italie. A noter que l'île de Malte, particulièrement bien étudiée et située à proximité du golfe de Gabès, renfermerait la faune la plus riche de toute la Méditerranée avec 851 espèces (Tableau 1).

Le golfe de Gabès ne serait donc pas le secteur le plus riche de la Méditerranée mais, en revanche, son taux d'endémisme (7% = 33 espèces selon Cecalupo *et al.* 2008), serait l'un des plus élevé, sinon le plus élevé de la Méditerranée. Ainsi, dans la mer d'Alboran, connue pour son fort endémisme, le taux estimé est de 4% (30 espèces selon Gofas 1998; Peñas *et al.* 2006). Tous les auteurs ont, presque, insisté sur les particularités de la malacofaune du golfe de Gabès, en soulignant, cette richesse en formes ou espèces endémiques. Dès la fin du 19^{ème} siècle, les biologistes marins ont reconnu que les mollusques du golfe de Gabès diffèrent de

ceux du reste de la Méditerranée par un certain nombre de caractères morphologiques diffus. Ces différences ont conduit à l'établissement de variétés, sous-espèces et espèces le plus souvent faiblement caractérisées. Le tableau 2 liste 126 taxons de mollusques décrites du golfe de Gabès dont 116 sont des gastéropodes.

Certains auteurs considèrent ces formes comme des espèces endémiques, tandis que d'autres les traitent comme de simples variants locaux (variétés écophénotypiques locales) d'espèces à large répartition méditerranéenne. La majorité de ces taxons ne sont pas connues dans les catalogues récents (WoRMS, CLEMAM). De ce fait, parmi ces 126 taxons, 33 seulement sont considérés aujourd'hui comme des espèces endémiques. Sabelli & Taviani (1981) pensent que le golfe de Gabès pourrait être considéré comme la zone de la Méditerranée la plus riche en espèces endémiques. Tout cela est encore spéculatif car en dépit de l'importance des diverses contributions, les études sur l'originalité du golfe de Gabès par rapport aux peuplements malacologiques du reste de la Méditerranée sont très fragmentaires.

Il en découle alors que:

- 1) la description des espèces nouvelles du golfe de Gabès est basée principalement sur les caractères de la coquille,
- 2) la majorité des espèces sont décrites succinctement, la diagnose est parfois applicable à plusieurs taxons,
- 3) les taxons décrits comme typiques du golfe de Gabès, ont été mis en synonymie avec d'autres noms dans la littérature, d'espèces rencontrées dans le golfe de Gabès ou dans d'autres régions méditerranéennes.

De plus, la faune malacologique du golfe de Gabès se caractérise par des phénotypes particuliers qui renforcent les difficultés à délimiter les espèces de cette région par rapport au reste de la Méditerranée. Ces particularités sont déjà signalées dans les diverses contributions depuis le début de 19^{ème} siècle. Pallary (1904) a bien expliqué les caractéristiques de cette faune du golfe de Gabès ayant des coquilles aux tests minces (caractéristiques des formes d'eau saumâtre) et une tendance à l'allongement de la spire. Par ailleurs, Monterosato (1879) et Dautzenberg (1883) ont noté aussi que la coloration est plus vive en plus des phénomènes d'albinisme et des déformations qui sont extrêmement répandues. Ces particularités faunistiques sont en forte relation avec les particularités océanographiques et écologiques propre au golfe de Gabès. En effet, et dans une comparaison morphologique de la faune marine sur les côtes de la Tunisie, de Sicile et d'Algérie, Pallary (1906) a montré qu'à Bizerte

la faune ne diffère en rien de celle du reste de la Méditerranée. Par contre, plus au Sud, cette faune change rapidement de physionomie et c'est à Gabès (Djerba, île de Kerkennah) que la faune prend un caractère spécial. Parmi les explications, Pallary (1906) indique que c'est à cause de la grande densité de zostères que les coquilles possèdent des spires très allongées et que les gastéropodes qui vivent dans ce feutrage d'herbes ne possèdent pas d'autre moyen que de s'allonger sans s'épaissir. Cette explication paraît plus logique pour les nombreux cas de déformations de la coquille, puisque les mollusques seront gênés dans leur développement normal par l'extrême abondance de ces végétaux. Par ailleurs, les conditions géophysiques propre au golfe de Gabès font synergie avec la salinité, nettement plus élevée que celle enregistrée ailleurs grâce aux faibles précipitations et à l'intense évaporation (Hamza 2003) pourrait conduire aussi à l'apparition de ces particularités faunistiques principalement la couleur de leurs coquilles tirants sur le rouge et le jaune.

Quoiqu'il en soit, cette grande variabilité de la malacofaune du golfe de Gabès pourrait donc être interprétée comme une réponse environnementale et une simple plasticité phénotypique ou adaptation locale: Espèces endémiques ou simples variants ? Voilà, enfin, la question qui se pose aujourd'hui. Il est patent que la taxonomie traditionnelle ne parvient pas à proposer des hypothèses de délimitations robustes des différentes espèces et ne répond, donc, pas à la demande urgente en matière de sauvegarde de la biodiversité de cette zone particulière de la Méditerranée. Il est, donc, nécessaire d'appliquer de nouveaux outils de la taxonomie, essentiellement ceux basés sur l'utilisation de l'alpha-taxonomie moléculaire et les nouvelles approches. On espère une révision taxonomique plus rigoureuse qui permettra de répondre au questionnement sur l'endémisme, tout en proposant des hypothèses taxonomiques robustes.

Tableau 1: Comparaison de la malacofaune entre différentes régions de la Méditerranée

Localité	Gastéropodes	Bivalves	Endémiques	Références
Malte	609	242	-	Cachia <i>et al.</i> (2004)
Mer d'Alboran	445	136	30 espèces	Penas <i>et al.</i> (2006)
Toscane	426	214	-	Terreni (1981)
Chypre	442	172	-	Ozturk <i>et al.</i> (2004)
Israël	408	193	-	Barash & Danin (1992)
Golfe de Gabès	406	157	33 espèces	Cecalupo <i>et al.</i> (2008)
Scilla (Calabre)	369	87	-	Vazzana (2012)
Valencia	359	184	-	Baldovi (2007); Goya (2008)
Golfe du Lion	360	180	-	Pelorce (2007)
Procida (Naples)	288	105	-	Soppelsa <i>et al.</i> (2007)
Algésiras	266	110	-	Van Aaresten <i>et al.</i> (1984)
Golfe de Trieste	294	172	-	Vio & De Min (1996)
Iles Tremiti	275	113	-	Mazziotti <i>et al.</i> (2008)
Barcelone	213	105	-	Penas <i>et al.</i> (2009)
Kotor	164	146	-	Stjeepevié & Parenzan (1980)
Nord Adriatique	124	68	-	Casellato & Stefanan (2008)
Méditerranée	1221	430	-	Coll <i>et al.</i> (2010)

Tableau 2. Liste des taxons décrits dans le golfe de Gabès

Taxon, auteur et date	Statut décrit	Localité type	Statut actuel (WoRMS/CLEMMAM)	Remarques
Fissurellidae				
<i>Fissurella producta</i> Monterosato, 1879	variété	Barbarie	<i>Diodora producta</i> Monterosato, 1879	
<i>Diodora demartiniorum</i> Buzzurro & Russo, 2005	espèce	Golfe de Gabès	<i>D. demartiniorum</i> Buzzurro & Russo, 2005	
Trochidae				
<i>Gibbula barbara</i> var. <i>pyramidata</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	<i>Gibbula ardens</i> Salis, 1793	Spire élevée, tours peu convexes (Pallary 1906)
<i>Gibbula latior</i> var. <i>turbinata</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Forme plus étroite que le type, a spire élevée (Pallary 1906)
<i>Gibbula latior</i> var. <i>alba</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Ombilic très ouvert, 20 mm de diamètre (Pallary 1906)
<i>Gibbula umbilicaris latior</i> Monterosato, 1879	subsp	Golfe de Gabès	N'est pas citée	
<i>Gibbula ardens</i> var. <i>barbara</i> Monterosato, 1879	variété	Golfe de Gabès	<i>Gibbula ardens</i> Salis, 1793	Ghizotti (1972) la considère comme subsp
<i>Gibbula ardens</i> var. <i>succincta</i> Monterosato, 1879	variété	Golfe de Gabès	<i>Gibbula ardens</i> Salis, 1793	Ghizotti (1972) la considère comme subsp
<i>Trochus fermoni</i> var. <i>elata</i> Monterosato, 1880	variété	Barbarie	<i>Gibbula ardens</i> Salis, 1793	
<i>Trochus fermoni</i> var. <i>albida</i> Monterosato, 1880	variété	Barbarie	<i>Gibbula ardens</i> Salis, 1793	
<i>Trochus fermoni</i> var. <i>purpurea</i> Monterosato, 1880	variété	Barbarie	<i>Gibbula ardens</i> Salis, 1793	
<i>Trochus fermoni</i> var. <i>sulphurea</i> Monterosato, 1880	variété	Barbarie	<i>Gibbula ardens</i> Salis, 1793	
<i>Trochus succinctus</i> var. <i>albida</i> Monterosato, 1880	variété	Barbarie	<i>Gibbula ardens</i> Salis, 1793	
<i>Trochus succinctus</i> var. <i>atropurpurea</i> Monterosato, 1880	variété	Barbarie	<i>Gibbula ardens</i> Salis, 1793	
<i>Trochus succinctus</i> var. <i>flavida</i> Monterosato, 1880	variété	Barbarie	<i>Gibbula ardens</i> Salis, 1793	
<i>Trochus succinctus</i> Monterosato, 1880	espèce	Golfe de Gabès	<i>Gibbula ardens</i> Salis, 1793	
<i>Trochus turbinoides</i> var. <i>cincta</i> Dautzenberg, 1883	variété	Golfe de Gabès	<i>G. turbinoides</i> Deshayes, 1835	Caractérisé par deux cordons élevés (Monterosato 1879)
<i>Trochus turbinoides</i> var. <i>albida</i> Dautzenberg, 1883	variété	Golfe de Gabès	<i>G. turbinoides</i> Deshayes, 1835	
<i>Trochus adansonii</i> var. <i>lutea</i> Dautzenberg, 1883	variété	Golfe de Gabès	<i>G. adansonii</i> Deshayes, 1835	
<i>Gibbula ardens</i> var. <i>pyramidata</i> Pallary, 1906	variété	Kantara, Gabès	<i>G. ardens</i> Salis, 1793	Tours très peu convexes, spire

				élevée
<i>Jujubinus fraterculus</i> var. <i>irisans</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Couleur rouge à reflets irisés: non décrite
<i>Jujubinus fraterculus</i> var. <i>atra</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Teinte noire mouchetée de blanc (Pallary 1906)
<i>J. fraterculus</i> var. <i>marmorata</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Bandes longitudinales rougeâtres alternées (Pallary 1906)
<i>Jujubinus unidentatus</i> var. <i>major</i> Pallary, 1904	variété	Djerba	N'est pas citée	H=12,5 ; L= 6mm
<i>Jujubinus unidentatus</i> var. <i>scalata</i> Pallary, 1904	variété	Djerba	N'est pas citée	Cordon plus gros que le type (Pallary 1904)
<i>Jujubinus unid.</i> var. <i>propeaequistriata</i> Pallary, 1904	variété	Djerba	N'est pas citée	Base large, test épais, (Pallary 1904)
<i>Jujubinus sericeus</i> Monterosato, 1879	espèce	Barbarie	N'est pas citée	Jolie espèce dérivée de <i>J. striatus</i> (Monterosato 1879)
<i>Jujubinus fraterculus</i> Monterosato, 1879	espèce	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Cordons anguleux, tours avec de fines stries
<i>Jujubinus exasperatus</i> var. <i>minor</i> Monterosato, 1879	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	
<i>Trochus smaragdinus</i> var. <i>aurea</i> Dautzenberg, 1883	variété	Adjim, Djerba	N'est pas citée	se distingue par sa couleur jaune (Dautzenberg 1883)
<i>Clanculopsis jussieui debilis</i> Pallary, 1904	subsp	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Globuleuse, spire conoïde (Pallary 1904)
<i>Clanculopsis jussieui debilis</i> var. <i>rosea</i> Pallary, 1904	variété	Djerba	N'est pas citée	Couleur rose : pas de description
<i>Clanculopsis jussieui debilis</i> var. <i>alba</i> Pallary, 1904	variété	Djerba	N'est pas citée	Couleur blanche : pas de description
<i>Trochocochlea turbiformis</i> var. <i>evoluta</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Forme plus régulière, tours convexes.
Calliostomatidae				
<i>Calliostoma inopinatum</i> Dautzenberg, 1911	espèce	Golfe de Gabes	<i>C. inopinatum</i> Dautzenberg, 1911	
Phasianellidae				
<i>Phasianella fascicularis</i> Dautzenberg, 1911				
<i>Phasianella speciosa</i> var. <i>aurea</i> Dautzenberg, 1882	variété	Golfe de Gabès	<i>Tricolia speciosa</i> (Megerle von Mühlfeld, 1824)	Jaune avec sommet teinté de rouge (Dautzenberg 1882)

Cerithiidae	subsp	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Pas de description
<i>Cerithium vulgatum</i> var. <i>repanda</i> Monterosato, 1880	variété	Barbarie	<i>Cerithium vulgatum</i> Bruguière, 1792	
Potamididae				
<i>Pirenella conica</i> var. <i>minor</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	<i>Potamides conicus</i> Blainville, 1829	
<i>Pirenella conica</i> <i>tricolor</i> Pallary, 1904	subsp	Golfe de Gabès	<i>Potamides conicus</i> Blainville, 1829	3 rangées de granulations (Pallary 1904)
<i>Pirenella conica</i> var. <i>duplicata</i> Pallary, 1906	variété	Adjim, Djerba	<i>Potamides conicus</i> Blainville, 1829	Marquée par ses cordons noduleux (Pallary 1906)
Siliquariidae				
<i>Tenagodus obtusus</i> var. <i>major</i> Pallary, 1906	variété	Kerkennah	N'est pas citée	L= 30cm, diameter = 1cm (Pallary 1904; p95)
Turritellidae				
<i>Turritella decipiens</i> var. <i>stricta</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	<i>T. decipiens</i> Monterosato, 1878	Très rare (Pallary, 1906)
<i>Turritella decipiens</i> var. <i>planata</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	<i>T. decipiens</i> Monterosato, 1878	Les tours sont plans... (Pallary 1906; p 96)
Littorinidae				
<i>Littorina nervillei</i> Dautzenberg, 1893	espèce	Djerba, Gabes	<i>Littorina saxatilis</i> Olivi, 1792	
Triphoridae				
<i>Triforis perversa</i> var. <i>elongate</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	<i>Monophorus perversus</i> Linné, 1758	Variété avec spire effilée, très allongée
Rissoidae				
<i>Rissoa paradoxa</i> var. <i>seminodosa</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Diffère du type par un labre réfléchi et une forme trapue
<i>Rissoa paradoxa</i> var. <i>pallaryi</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Avec stries fines, ouverture large, (Pallary 1906)
<i>Rissoa paradoxa</i> var. <i>minor</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Spire plus étroite, rare (Pallary 1906)
<i>Rissoa monterosatoi</i> Pallary, 1906	espèce	Golfe de Gabès	<i>R. aartseni</i> Verduin, 1985	allongée, sculpture atténuée, columelle arquée
<i>Acinus cimex</i> var. <i>nivea</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Pas de description (Pallary 1906; p99)

<i>Rissoa monodonta</i> var. <i>auriformis</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	<i>R. auriformis</i> Pallary, 1904	Labre évasé, spire effilée (Pallary, 1904)
<i>Rissoa spongicola</i> var. <i>minor</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	De petite taille (Pallary 1904; 235)
<i>Rissoa spongicola</i> var. <i>curta</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	De taille très courte (Pallary 1904; 235)
<i>Rissoa spongicola</i> Dautzenberg, 1883	espèce	Golfe de Gabès	<i>Rissoa variabilis</i> (Von Mühlfeldt, 1824)	
<i>Rissoa spongicola</i> var. <i>acutalis</i> Pallary, 1904	variété	Gabès	N'est pas citée	Spire aigue, élancée (Pallary 1904; 235)
<i>Rissoa spongicola</i> var. <i>puntatissima</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Système de coloration remarquable
Hydrobiidae				
<i>Paludestrina salinesii</i> var. <i>curta</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Pas de description (Pallary 1906)
Epitoniidae				
<i>Scalaria comunis</i> var. <i>minor</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Pas de description
<i>Subularia subulata</i> var. <i>hyalina</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Test hyalin transparent comme le cristal (Pallary 1906)
<i>Subularia subulata</i> var. <i>gracilentia</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Forme plus élancée, taille petite (h= 4 mm, l= 1mm)
Eulimidae				
<i>Eulima praecurta</i> Pallary, 1904	espèce	Golfe de Gabès	<i>Melanella praecurta</i> Pallary, 1904	Bien décrite (Pallary 1904 ; p 239)
<i>Eulima praecurta</i> var. <i>minor</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Pas de description (Pallary 1904),
Vermetidae				
<i>V.granulatus</i> var. <i>excurrens</i> Monterosato, 1892	variété	Barbarie	<i>V. granulatus</i> Gravenhorst, 1831	
<i>Vermetus selectus</i> var <i>ramosa</i> Monterosato, 1892	variété	Barbarie	<i>Petalconchus glomeratus</i> Linné, 1758	
<i>V. subcancellatus</i> var. <i>tubulosa</i> Monterosato, 1879	variété	Barbarie	<i>Petalconchus glomeratus</i> Linné, 1758	
<i>Bivonia granulata</i> var. <i>spongicola</i> Monterosato, 1879	variété	Barbarie	<i>Petalconchus glomeratus</i> Linné 1758	

<i>Bivonia granulata</i> var. <i>minor</i> Pallary, 1904	variété	-	N'est pas citée	Pas de description (Pallary 1904)
<i>Vermetus verrucosus</i> Monterosato, 1879	espèce	Barbarie ? Sicile	<i>Thylacodes arenarius</i> Linné, 1758	
Naticidae				
<i>Natica intricata</i> var. <i>alba</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Pas de description (Pallary 1904)
<i>Natica Josephinia</i> var. <i>alba</i> Pallary, 1906	variété	Djerba	N'est pas citée	Couleur blanche: pas de description (Pallary 1906)
Muricidae				
<i>Muricopsis ghisottii</i> Cecalupo Buzzurro & Mariani, 2008	espèce	Golfe de Gabès	<i>Muricopsis ghisottii</i> Cecalupo Buzzurro & Mariani, 2008	
<i>Ocinebrina buzzurroi</i> Cecalupo Buzzurro & Mariani, 2008	espèce	Golfe de Gabès	<i>O. corallinoides</i> Pallary, 1912	
<i>Oicnebrina carmelea</i> Cecalupo Buzzurro & Mariani, 2008	variété	Golfe de Gabès	<i>O. piantonii</i> Cecalupo Buzzurro & Mariani, 2008	
<i>Ocinebrina piantonii</i> Cecalupo Buzzurro & Mariani, 2008	espèce	Golfe de Gabès	<i>O. carmelae</i> Cecalupo Buzzurro & Mariani, 2008	
<i>Ocinebrina corallinoides</i> Pallary, 1912	espèce	Golfe de Gabès	<i>O. corallinoides</i> Pallary, 1912	
<i>Ocinebrina edwardsii</i> var. <i>hispidula</i> Pallary, 1904	variété	Djerba, Gabes	<i>O. hispidula</i> Pallary, 1904	Labre fortement denticulé, épais
<i>Ocinebrina corallinoides</i> var. <i>exilis</i> Houart, 2001	variété	Djerba, Gabes	<i>O. aciculata</i> Houart, 2001	
<i>Ocinebrina blainvillei</i> var. <i>hursita</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	<i>Muricopsis cristata</i> Brocchi, 1814	Tours épineux (Pallary 1904 ; p 231)
<i>Ocinebrina blainvillei</i> var. <i>hispidula</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	<i>O. hispidula</i> Pallary, 1904	Spire élevée, tours anguleux (Pallary 1904)
<i>Murex trunculus</i> var. <i>buccinoides</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	<i>Hexaplex trunculus</i> Linné, 1758	Variété turriculée, tours renflés (Pallary 1904)
<i>Trophon rostratus</i> var. <i>rusticula</i> Monterosato, 1880	variété	Djerba, Gabes	<i>Fusinus rusticulus</i> Monterosato, 1880	
Buccinidae				
<i>Euthria cornea</i> var. <i>articulata</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Coloration remarquable (Pallary 1904; p 226)
<i>Polia bicolor</i> var. <i>elegans</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Taille élancée, spire scalariforme (Pallary 1904)

Nassariidae				
<i>Nassa ferussaci exigua</i> Pallary, 1904	subsp	Golfe de Gabès	<i>Nassarius cuvierii</i> Payraudeau, 1826	Petite, ovale, avec des stries fines (Pallary 1904)
<i>Nass mutabilis var curta</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	<i>Nassarius mutabilis</i> Linné, 1758	Spire courte, fortement ventrus (Pallary 1904)
<i>Nassmutabilis var.miniscula</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	<i>Nassarius mutabilis</i> Linné, 1758	Spires allongées et aigues (Pallary 1904)
<i>Amycla corniculum bedei</i> Pallary, 1904	Subsp.	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Bien décrite (Pallary 1904; p 228)
<i>Amycla corniculum var. elongata</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Spires allongées (Pallary 1904; p 228)
<i>Nassa ferussaci arcuata</i> Pallary, 1904	subsp	Golfe de Gabès	<i>Nassarius cuvierii</i> Payraudeau, 1826	Avec réticulation, côte arquées (Pallary 1904)
<i>Nassa feruscaci var.claudoni</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	<i>Nassarius cuvierii</i> Payraudeau, 1826	
Columbellidae				
<i>Mitrella spelta</i> Monterosato, 1879	espèce	Barbarie	<i>Mitrella spelta</i> Monterosato, 1879	translucide plus grande que <i>Mitrella scripta</i>
Costellariidae				
<i>Uromitra plicatuliformis var minor</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	dimensions : H= 13-14,5 ; D= 4-5 mm
Mangeliidae				
<i>Ginnania taprurensis</i> Pallary, 1904	espèce	Golfe de Gabès	<i>Bela taprurensis</i> Pallary 1904	Allongée, turriculée, oblongue (Pallary, 1904)
<i>Ginnania taprurensis var.recticosta</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	A tours plus gros, côtes droites (Pallary 1904)
<i>Ginnania taprurensis var.albina</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Couleur blanche, test translucide (Pallary 1904)
Conidae				
<i>Conus mediterraneus var.alticonica</i> Pallary,1904	variété	Golfe de Gabès	<i>Conus ventricosus</i> Gmelin, 1791	Spire plus élevée que le type (Pallary 1904)
Clathurellidae				
<i>Clathromangelia strigilata</i> Pallary, 1904	espèce	Golfe de Gabès	<i>C. strigilata</i> Pallary, 1904	Bien décrite (Pallary 1904; p 222-223)

Mangeliidae				
<i>Mangelia kochi</i> Pallary, 1904	espèce	Golfe de Gabès	<i>Mangelia pallaryi</i> Nordsieck, 1977	Bien décrite (Pallary 1904; p 221)
Raphitomidae				
<i>Philbertia papillosa</i> Pallary, 1904	espèce	Golfe de Gabès	<i>Raphitoma papillosa</i> Pallary, 1904	Coquille allongée, fusiforme... (Pallary 1904)
<i>Homotoma mirabilis</i> Pallary, 1904	espèce	Golfe de Gabès	<i>Raphitoma mirabilis</i> Pallary, 1904	Bien décrite (Pallary 1904; page 219)
<i>Homotoma bracteata</i> Pallary, 1904	espèce	Golfe de Gabès	<i>Raphitoma bracteata</i> Pallary, 1904	Coquille, turriculée, ventrue (Pallary 1904)
Pyramidellidae				
<i>Turbonilla stricta</i> Pallary, 1904	espèce	Golfe de Gabès	<i>T. pumila</i> Seguenza, 1876	Bien décrite (Pallary 1904; p 236-237)
<i>Turbonilla mirifica</i> Pallary, 1904	espèce	Golfe de Gabès	<i>T. mirifica</i> Pallary, 1904	Bien décrite (Pallary 1904 ; p 237)
<i>Turbonilla tenuis</i> Pallary, 1904	espèce	Golfe de Gabès	<i>Turbonilla rosewateri</i> Corgan & van Aartsen, 1993	Bien décrite (Pallary 1904 ; p 238-239)
<i>Actaeopyramis bulinea</i> var. <i>tenuis</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Moins élancée, pas de stries (Pallary 1904)
Retusidae				
<i>Retusa semisulcata</i> var. <i>stricta</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Ouverture plus au moins large (Pallary 1904)
<i>Retusa dilatata</i> var. <i>major</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	<i>Retusa truncatula</i> Bruguière, 1792	Plus ou moins haute (Pallary 1904 ; p 215)
<i>Retusa dilatata</i> var. <i>minor</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	<i>Retusa truncatula</i> Bruguière, 1792	Plus petite ... (Pallary 1904 ; p 215)
<i>Retusa semisulcata</i> var. <i>stricta minor</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	N'est pas citée	Pas de description (Pallary 1904)
<i>Conus mediterraneus</i> var. <i>alticonica</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	<i>Conus ventricosus</i> Gmelin, 1791	Spire plus élevée que le type (Pallary 1904)
Bivalves				
Nuculidae				
<i>Nucula nucleus</i> var. <i>obliqua</i> Monterosato, 1880	variété	Golfe de Gabès	<i>Nucula nucleus</i> Linné, 1758	Les tours sont plans... (Pallary 1906 ; p 96)

Pinnidae				
<i>Pinna nobilis</i> var. <i>dilatata</i> Pallary, 1906	variété	Kerkenah,	<i>Pinna nobilis</i> Linné, 1758	Petite taille, mince fragile base dilatée
Pteriidae				
<i>Melaegrina occa</i> var. <i>viridis</i> Pallary, 1906	variété	Djerba, Gabès	<i>N'est pas citée</i>	Pas de description
<i>Melaegrina occa</i> var. <i>rubra</i> Pallary, 1906	variété	Djerba, Gabès	<i>N'est pas citée</i>	Pas de description
Pectinidae				
<i>Pecten glaber</i> var. <i>costis duplicatus</i> Dautzenberg, 1883	variété	Golfe de Gabès	<i>N'est pas citée</i>	
Spondylidae				
<i>Spondylus gaederopus</i> var. <i>lamellosa</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	<i>S. gaederopus</i> Linné, 1758	Lamelles distinctes, minces et allongées
Thyasiridae				
<i>Axinus oblongus</i> Monterosato, 1880	espèce	Gabès+ Sicile ?	<i>Thyasira oblonga</i> Monterosato, 1880	
Carditidae				
<i>Cardita calyculata</i> var. <i>obsoleta</i> Dautzenberg, 1883	variété	Golfe de Gabès	<i>Cardita calyculata</i> Linné, 1758	Côte très peu saillantes, pas de squamules
Cardiidae				
<i>Cardium edula</i> var. <i>globulosa</i> Pallary, 1906	variété	Golfe de Gabès	<i>N'est pas citée</i>	Forme très globuleuse
Solenidae				
<i>Solen marginatus</i> var. <i>minor</i> Pallary, 1904	variété	Golfe de Gabès	<i>N'est pas citée</i>	Très courte
Donacidae				
<i>Donax sebae</i> Cecalupo Buzzurro & Mariani, 2008	espèce	Golfe de Gabès	<i>Donax sebae</i> Cecalupo Buzzurro & Mariani, 2008	
<i>Abra lorenzoi tenuis</i> Cecalupo Buzzurro & Mariani, 2008	subsp	Golfe de Gabès	<i>Abra tenuis</i> Montagu, 1803	Coloration remarquable (Pallary 1904; p 226)

1.3. Objectifs et plan de la thèse

Réviser la question de l'endémisme du golfe de Gabès est le thème central de ce travail. Il conduira à réfléchir sur la préservation de cet environnement unique et aux efforts de conservation nécessaires pour le préserver. La problématique de ce travail peut, donc, être déclinée en trois principaux points:

(1) Réviser le statut taxonomique des mollusques marins du golfe de Gabès et discuter l'endémisme de cette malacofaune: les différences d'opinion sur le statut taxonomique des mollusques du golfe de Gabès sont le résultat d'une systématique "intuitive", et non celui d'une analyse réfutable de caractères. Plusieurs espèces endémiques sont fortement apparentées dont certaines sont très semblables morphologiquement et leur taxonomie n'est pas résolue.

Comme il l'a été déjà signalé l'état de la taxonomie des mollusques marins du golfe de Gabès a peu évolué depuis le début du 20^{ème} siècle. Il y a un besoin pressant de réactualisation en s'appuyant sur une approche de taxonomie moléculaire, afin d'évaluer les espèces nominales déjà décrites et éventuellement en reconnaître de nouvelles. La notion d'endémisme sera notamment discutée en utilisant des caractères liés au développement (morphologie des protoconques comme indicatrice de l'écologie larvaire). La confrontation de l'ensemble de ces éléments permettra d'identifier ceux qui discriminent correctement les individus en espèces, d'éliminer à l'inverse ceux qui ne remplissent pas cette fonction, et si nécessaire d'en redéfinir de nouvelles.

(2) Relier les particularités malacofaunistiques du golfe de Gabès à ses caractéristiques océanographiques (fort éclaircissement, températures élevées, amplitude importante des marées) et discuter des phénomènes de spéciation qui pourraient être à l'origine de l'endémisme (s'il est avéré).

Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer l'origine de l'endémisme, elles seront discutées selon les complexes d'espèces étudiées. Parmi ces hypothèses certaines ont été par des géologues/paléontologues (Sabelli 1980) ou bien, plus récemment, par des malacologistes (Barco *et al.* 2013).

* La première hypothèse est que l'endémisme local pourrait résulter de phénomènes de spéciation pendant les épisodes glaciaires du Quaternaire, pendant lesquelles le bassin sud-oriental de la Méditerranée est resté tempéré. Cependant, pendant les bas niveaux marins des périodes glaciaires, le golfe de Gabès était asséché, ce qui rend problématique l'hypothèse

d'une spéciation sur place. En l'absence des formes fossiles correspondant aux formes des espèces endémiques dans les sédiments holocènes, Sabelli & Taviani (1981) considèrent que la malacofaune du golfe de Gabès n'est en place que depuis 10 000 ans, en conformité avec les estimations de l'époque de formation du golfe actuel (6000-8000 ans).

* Une deuxième hypothèse est que les endémiques se seraient formés ailleurs avant même la formation du golfe, dans des zones refuges. Suite au changement des conditions climatiques dans la Méditerranée, ces endémiques auraient réduit leur aire de répartition au golfe de Gabès.

* Une autre hypothèse pourra également être discutée : les soi-disant endémiques du golfe de Gabès ne sont pas des espèces distinctes mais des simples variations écophénotypiques résultants des conditions environnementales extrêmes du golfe.

(3) Tester la structuration génétique des espèces communes, à large répartition, présentes dans le golfe et les comparer avec leurs homologues dans le reste de la Méditerranée afin de détecter la présence, ou non, des espèces cryptiques à l'intérieur et à l'extérieur du golfe. Dans ce contexte, il est particulièrement intéressant d'étudier des groupes d'espèces et de travailler sur plusieurs populations par espèce, notamment des populations réparties dans différents milieux, et sur l'ensemble de l'aire de répartition de l'espèce. En effet, l'étude de la répartition de la variabilité génétique et phénotypique entre les populations et les taxons permet de mieux comprendre les processus impliqués dans la différenciation des populations et la spéciation.

Pour répondre à ces objectifs, on a choisi de séquencer différents genres de gastéropodes. Les mêmes questions ont été abordées pour chaque modèle biologique. Dans tous les cas, le préalable a été de valider ou de produire des hypothèses de délimitation d'espèces et plus généralement de clarifier le cadre systématique, afin de réfuter ou de confirmer l'endémisme des espèces en question.

Le présent travail a été structuré de la façon suivante :

- ✓ Le chapitre 1 présente le contexte et la problématique avec une synthèse historique de la malacologie dans le golfe de Gabès.
- ✓ Le chapitre 2 présente le cadre conceptuel et méthodologique qui a été choisi pour établir des hypothèses de délimitation d'espèces robustes.

- ✓ Dans le chapitre 3, la diversité cryptique chez certains Vetigastropoda de Méditerranée est étudiée. Le statut taxonomique de certaines espèces du genre *Diodora* (Gastropoda, Fissurellidae) dans la Méditerranée orientale est révisé et les hypothèses possibles de spéciation dans le golfe de Gabès sont discutées. De même, dans le genre *Jujubinus* (Gastropoda, Trochidae), en utilisant une approche intégrative, les complexes d'espèces *exasperatus* et *striatus* sont révisés dans le but de confirmer ou de rejeter l'hypothèse d'endémique.
- ✓ Dans le chapitre 4, l'approche intégrative est utilisée pour réviser le statut taxonomique de Caenogastropoda (Buccinidae). On proposera une redéfinition des espèces assignées traditionnellement au genre *Polia* afin de stabiliser leur statut taxonomique.
- ✓ Dans le chapitre 5 la famille des Nassariidae dans le golfe de Gabès est révisée.
- ✓ Le chapitre 6 est consacré à la famille des Muricidae en particulier le genre *Ocenebrina* et *Muricopsis* en Atlantique et/ou en Méditerranée. Dans ce chapitre le statut taxonomique et l'endémisme des espèces décrites dans le golfe de Gabès sont testés par une comparaison phylogénétique et morphologique avec les espèces sœurs connues dans la Méditerranée et/ou l'Atlantique. Des hypothèses de délimitation d'espèces au sein de ces deux genres sont proposées.
- ✓ le chapitre 7 dresse un bilan sur l'endémisme dans le golfe de Gabès tel qu'il apparaît d'après nos premiers résultats. L'origine de cet endémisme est discutée.

Enfin un retour à la biologie de la conservation est accompagné de réflexions sur l'état actuel de l'environnement, les mollusques apparaissent comme des indicateurs de l'évolution du milieu.

CHAPITRE II

APPROCHE INTEGRATIVE: CADRE CONCEPTUEL ET METHODES

«Les racines des sciences sont amères, mais le fruit en est doux».

Proverbe latin

2.1 Concepts et stratégie de délimitation d'espèce

L'espèce est l'un des trois niveaux principaux de description de la biodiversité classiquement reconnus, avec le gène et l'écosystème. Elle est donc primordiale dans la conservation de la biodiversité mais sa définition n'était jamais simple. *«Chez certains, la ressemblance est tout, et la descendance de parents communs compte pour peu de choses; chez d'autres, la ressemblance ne compte pratiquement pour rien, et la création est l'idée dominante ; pour d'autres encore, la descendance est la notion-clé ; chez certains, la stérilité est un test infaillible, tandis que chez d'autres, cela ne vaut pas un sou. Tout cela vient, je suppose, de ce que l'on essaie de définir l'indéfinissable »* (Darwin 1858). En effet et malgré que c'est un concept fondamental en biologie, son utilisation générale, fait l'objet de nombreux débats (Castelin 2010). Les trois principaux concepts d'espèce qui prévalent aujourd'hui sont le concept biologique (BSC) (Mayr 1942), phylogénique (PSC) (Cracraft 1983) et évolutif (ESC) (Simpson 1961; Wiley *et al.* 1991).

Pour le concept biologique l'espèce est un groupe d'individus potentiellement interféconds et ayant une descendance fertile (Mayr 1942). En phylogénie l'espèce est définie comme un groupe d'organismes qui peuvent être distingués d'autres groupes et auquel appartiennent les ancêtres et les descendants d'une lignée évolutive; c'est le «Phylogenetic Species Concept, PSC» (Cracraft 1983). Certains auteurs ont proposé un consensus pour définir le concept d'espèce (Lineage Species Concept). En 1998, De Queiroz établit que le LSC constitue une définition de l'espèce, et que tous les autres concepts précédemment établis doivent être considérés comme des critères de délimitations d'espèces utilisés dans la pratique. Cette définition de l'espèce est formalisée récemment par Samadi & Barberousse (2006) qui proposent un concept internodal de l'espèce. Ce concept définit l'espèce comme un entre-nœud de l'arbre du vivant, définitivement divergent des autres lignées (i.e. les individus d'une même espèce sont connectés entre eux par des événements de reproduction et sont séparés des autres espèces par des événements de spéciation (Samadi & Barberousse 2006, 2009).

C'est dans ce cadre conceptuel que les approches de taxonomie intégrative sont développées. Les différents critères testés à partir d'un jeu de caractères donnés vont ainsi permettre de proposer des hypothèses primaires de délimitation d'espèce, qui seront ensuite validées, réfutées ou reformulées au fur et à mesure que de nouveaux critères sont explorés (Vogler & Monaghan 2007; Puillandre 2008, Puillandre *et al.* 2009).

L'approche de la taxonomie intégrative suivie dans le cadre de cette thèse passe par plusieurs méthodes:

(i) une *méthode phénétique* basée sur la comparaison de caractères. Dans cette thèse les caractères choisis sont moléculaires et morphologiques. Nous comparons des distances génétiques entre eux et au sein des espèces. La distribution des comparaisons des séquences prises deux à deux inclut des distances génétiques faibles (calculées entre individus de la même espèce, plus proches entre eux) et des distances génétiques élevées (calculées entre individus d'espèces différentes). Si l'échantillonnage est suffisamment grand, il peut y avoir une zone de fréquence nulle (ou réduite) entre ces deux types de distances: le barcode gap (Puillandre 2010). Ce seuil est ensuite utilisé pour délimiter des espèces. Les groupes d'individus définis (distances génétiques < seuil) correspondent aux hypothèses primaires de délimitation d'espèces (Puillandre 2008).

(ii) La deuxième étape est la *méthode phylogénétique* qui a pour objectif de tester la monophylie des hypothèses d'espèces proposées.

(iii) En troisième étape, les critères de similarités génétiques et de la monophylie établies par le COI seront confrontés à d'autres caractères (caractères nucléaires, biogéographique...), Enfin, le degré de congruence entre les caractères génétiques et les caractères morphologiques est évalué pour renforcer, modifier ou réfuter les hypothèses primaires de délimitation d'espèce.

Chez les gastéropodes, les taxons sont généralement décrits à partir des caractères morphologiques de la coquille, ce qui ne permet pas de délimiter de façon robuste l'espèce. Les divergences morphologiques de la coquille peuvent refléter non pas des différences entre les espèces, mais des différences liées à l'environnement (Hollander *et al.* 2006 ; Brookes & Rochette 2007; Cook 2008). En effet, d'une espèce à l'autre les états de caractères des coquilles sont souvent continus et ne permettent pas de placer les limites d'espèces (Pfenninger *et al.* 2006) et peut conduire à une gamme d'opinions divergentes entre les différentes autorités taxonomiques sur la délimitation des espèces (Puillandre 2008). Ces opinions pouvant varier d'un taxonomiste à l'autre en fonction des caractères utilisés (*e.g.* forme générale de la coquille, sculptures, morphologie de la protoconque, téléconque...) et les hypothèses de délimitation d'espèce ne sont généralement pas reproductibles. A l'inverse les approches moléculaires s'appuient sur des caractères héritaires et discrets, qui nous permettent d'établir des hypothèses de délimitation spécifiques qui peuvent être soumis à une vérification par l'addition de nouveau caractère (*e.g.* avec l'ajout de caractères et/ou d'individus nouveaux). Les caractères moléculaires sont de plus en plus utilisés en taxonomie

(e.g. Knowlton 2000; Hebert & Gregory 2005). Ils offrent un outil d'assignation des spécimens à une espèce connue (approche du *barcoding*, Hebert *et al.* 2003; Hogg & Hebert 2004; Meyer & Paulay 2005) et un outil de tri, permettant de mettre en évidence la présence potentielle d'espèces nouvelles et/ou d'établir des hypothèses de délimitation d'espèces plus rigoureuses (Wu *et al.* 2005; Puillandre *et al.* 2009).

Selon Avise *et al.* (1987), le choix du marqueur est établi selon plusieurs critères. Afin d'établir des comparaisons de séquences nucléotidiques homologues entre une grande variété d'organismes, le marqueur doit être :

- (i) fortement conservé et universellement distribué au sein d'une large gamme d'organismes,
- (ii) le marqueur doit être facile à isoler et doit avoir une structure génétique simple, dénué d'éléments transposables, de pseudogènes, de séquences répétées ou introniques
- (iii) le marqueur doit être informatif au niveau spécifique et populationnel
- (iv) il doit donc présenter un taux d'évolution rapide.

Le gène mitochondrial codant pour le cytochrome oxydase I (gène COI) utilisé dans la méthode Barcode (Hebert *et al.* 2003b), répond à l'ensemble de ces critères. Ce gène code pour la protéine de la chaîne respiratoire présente chez tous les organismes aérobiques et est fortement conservé. Comme la molécule d'ADN mitochondrial, ce gène est haploïde, non-recombinant et présent en plusieurs copies. Enfin, ce marqueur présente un taux d'évolution relativement rapide. En effet, l'ADN mitochondrial est une molécule haploïde et à transmission monoparentale. Le temps de coalescence moyen (c'est-à-dire le temps qui sépare deux copies de leur plus proche ancêtre) est directement lié à la taille efficace des populations, il est donc quatre fois plus court pour un gène mitochondrial que pour un gène nucléaire (diploïde à transmission biparentale). Les marqueurs mitochondriaux sont soumis à une forte dérive génétique et se fixent donc plus rapidement que les gènes nucléaires dans chaque population. Ainsi, quand les événements de spéciation sont récents mais que la taille efficace des populations est grande, les gènes mitochondriaux permettent de meilleures inférences phylogénétiques (Hare 2001). Par ailleurs, ce marqueur présente un taux de variabilité intra-spécifique faible par opposition à un taux de variabilité interspécifique plus élevé (Hebert *et al.* 2003b).

Dans ce travail, l'analyse de la diversité au sein de différentes familles étudiées est établie à partir d'une approche de taxonomie intégrative. Selon les connaissances

taxonomiques disponibles, les hypothèses primaires de délimitation seront formulées à partir de caractères morphologiques en deux étapes (avant et après l'obtention des données moléculaires) ou à partir du gène COI. L'utilisation de caractères morphologiques reposera sur un critère phénétique (similarité / dissimilarité). L'utilisation de données moléculaires reposera elle-même sur l'utilisation de critères phénétiques et phylogénétiques. Enfin, l'ensemble des caractères et des critères testables seront évalués conjointement et discutés en regard des données écologiques et géographiques, ce qui permettra d'affiner les hypothèses primaires.

2.2 Echantillonnage, obtention des données, identification morphologique et mise en base de données

Dans un premier temps, et faute d'échantillons disponibles en nombre suffisant dans d'autres régions de la Méditerranée, l'accent a été mis sur des espèces à large répartition (espèces cibles), dont des séquences sont déjà présentes dans les bases de données (GenBank, BOLD). L'hypothèse à tester est que ces espèces à grande répartition pourraient en fait présenter un certain degré de structuration génétique, avec une différenciation des populations du golfe de Gabès, menant éventuellement jusqu'à la présence d'espèce distinctes dans cette zone. Une première campagne d'échantillonnage a été effectuée dans le golfe de Gabès en 2012, et plus de 500 spécimens ont été collectés, dont certains correspondent aux espèces-cibles. En juin 2013, une mission de terrain a été organisée dans le golfe de Gabès sur l'île de Djerba, avec trois malacologistes expérimentés (Marco Oliverio, Gianni Spada, Philippe Maestrati) et un plongeur (Emmanuel Vassard). Au cours de cette mission 650 spécimens supplémentaires ont été récoltés dans différents sites portant à 1150 spécimens les récoltes pour le golfe de Gabès. Dans un deuxième temps, pour comparaison et en fonction des résultats génétiques obtenus pour la faune du golfe de Gabès, l'accent a été mis essentiellement sur des espèces à large répartition et qui se repartie hors du golfe de Gabès (Atlantico-Méditerranéenne). Une mission de terrain a aussi été effectuée au Nord de la Tunisie à Bizerte en 2014, et plus de 500 spécimens ont été prélevés. Par la suite des récoltes en Grèce (mer Egée et mer Ionienne) ont été faites dans le cadre de cette thèse par le plongeur P. Kyriakos et le malacologiste Paolo Russo. Plus de 150 spécimens de cet échantillonnage ont été séquencés. Un matériel complémentaire a été échantillonné en Italie par Gianni Spada, en Espagne par Serge Gofas, dans le Sud de la France par Jean Jacques Pelorce, et en Sicile par Peter Stahlschmidt (Fig. 5). Notre base de données a été aussi enrichie par du matériel

récolté dans différentes localités de l'Atlantique et de la Méditerranée, séquencé au MNHN à Paris et par des séquences disponibles dans les bases de données (GenBank, BOLD).

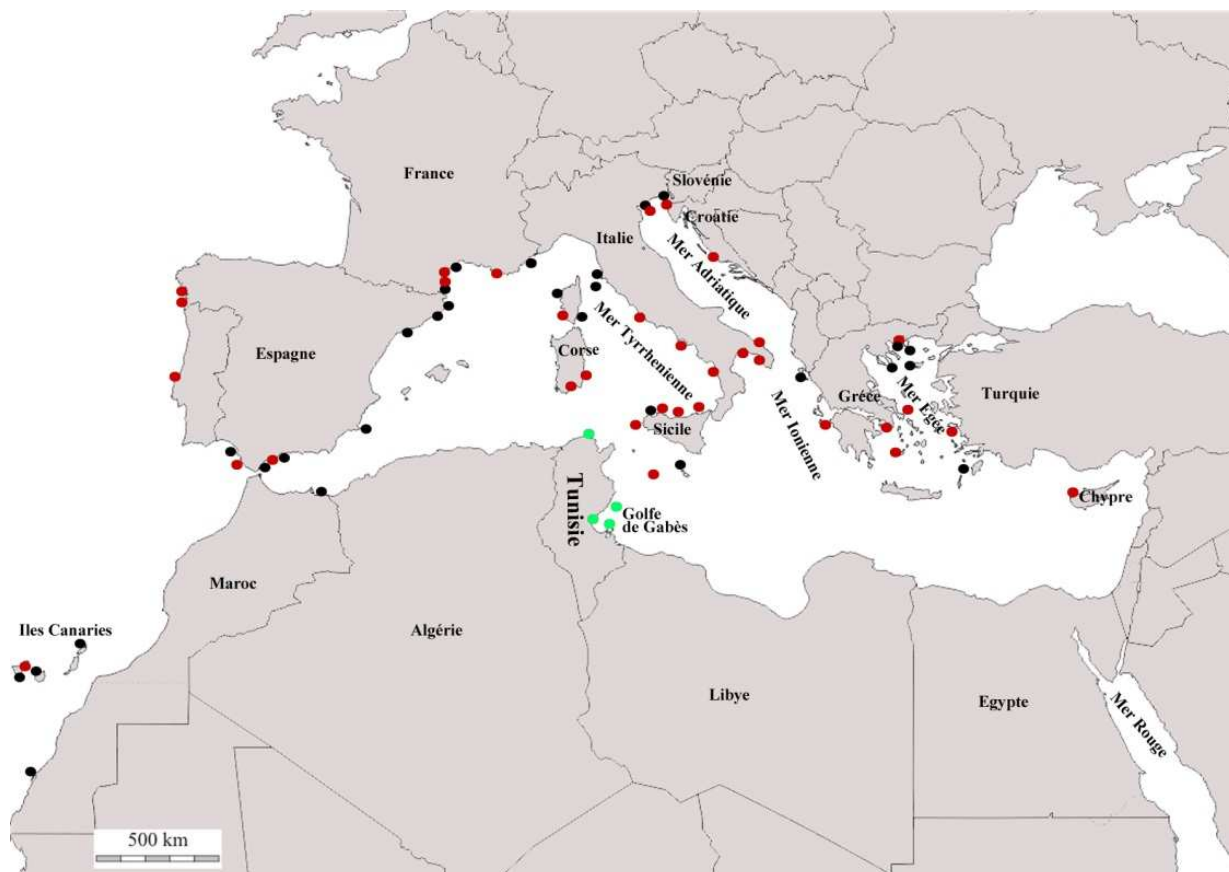


Figure 5. Localisation du matériel séquencé. 1: matériel collecté et séquencé dans le cadre de ce travail (cercle noir: récolté par les collaborateurs; cercle vert: récolte personnel à l'aide de l'équipe du MNHN), 2: matériel collecté et séquencé par des collaborateurs (cercle rouge).

Suivant le protocole mis en place récemment dans les grandes expéditions marines organisées par le MNHN, les spécimens ont été préparés de façon à assurer une bonne conservation des tissus en alcool, et donc une bonne conservation de l'ADN. Les spécimens sont passés vivants au four micro-onde selon la méthode décrite par Galindo et *al.* 2014, et peuvent ainsi être extraits sans dommage pour la coquille (qui constituera donc le voucher dans les collections du MNHN). Le morceau de tissu prélevé est placé directement dans une plaque Matrix de tube 2D remplis d'alcool > 95°, toujours suivant les standards mis en place dans les missions récentes.

Identification morphologique de la faune récoltée

L'identification morphologique de toutes les espèces a été réalisée dans un premier temps sur le terrain puis de retour au laboratoire par Gianni Spada, (pour la 2^{ème} mission – Marco Oliverio, Gianni Spada). L'ensemble des coquilles ayant été mises en collection, un retour à la morphologie est toujours possible même après les analyses moléculaires avec des différents spécialistes en fonction de la famille séquencée (ex: Serge Gofas pour les Cerithiidae, Marco Oliverio pour les Muricidae, Hugo Kool pour les Nassariidae...).

- Mise en base de données (Fig. 6)

Pour chaque mission la première étape a été d'attribuer à chacun des spécimens un numéro unique (système de référencement du MNHN). Ce numéro se compose de 3 éléments: un acronyme de la collection (IM), le numéro de l'année de saisie (2009, 2013) et le numéro d'inventaire (exemple: 3158). Si le lot en provenance du terrain contient plusieurs spécimens, ils sont individualisés. La base de données INVMAR, conçue spécifiquement pour les invertébrés marins, a été utilisée pour associer à chaque spécimen l'ensemble des informations disponibles:

- individu: numéro d'identification, état de l'individu, conditions de conservation,
- sites de récolte: date et lieu, coordonnées géographiques, méthode d'échantillonnage, type de substrat, profondeur, collecteur,
- morphologie de l'individu: photos de l'individu, état de la coquille,

Les spécimens référencés sont photographiés avec une ou plusieurs prises de vues standardisées. En collection, les coquilles séchées sont regroupées par famille puis par espèce dans une boîte contient plusieurs tubes ou sachets avec les numéros de catalogues des spécimens qu'elles contiennent. La conservation de ces données assure ainsi la possibilité d'un retour à l'observation de la coquille de chaque individu, même après une éventuelle dégradation de son état.

- Identification du spécimen: classe, famille, genre, espèce...

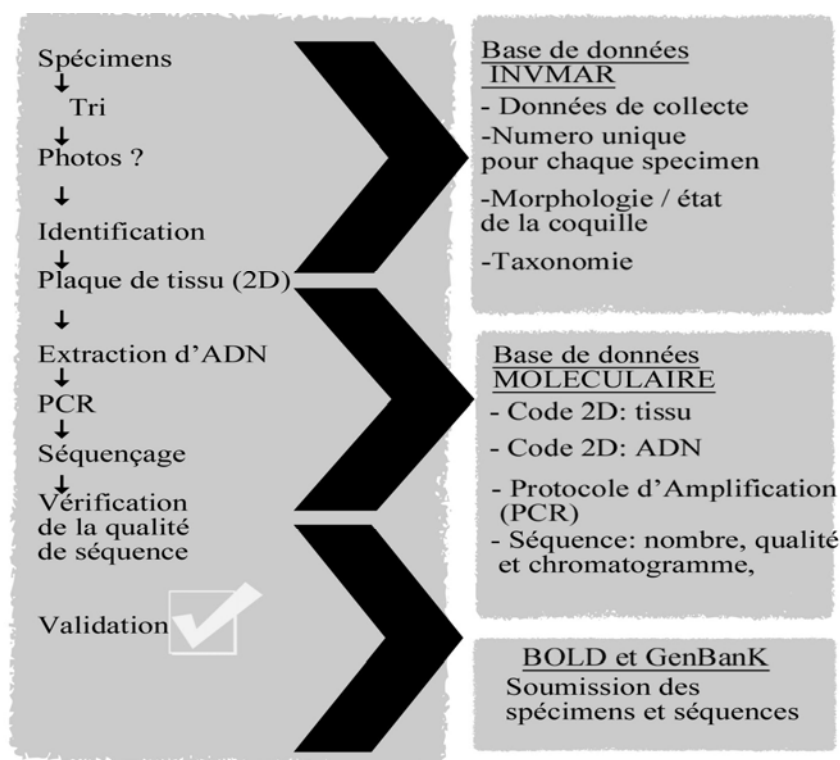


Figure 6. Chaîne de traitement du matériel, de la collecte aux collections et la mise en base de données.

2.3 Séquençage et extraction d'ADN

A partir du stock de tissu en tubes 2D dans la plaque Matrix, un sous-prélèvement est prélevé ($1/5^{\text{ème}}$ du total) pour effectuer une extraction d'ADN; le surplus de tissu est replacé dans le tube 2D. Entre chaque prélèvement, il est important de passer les outils de dissection à l'eau de javel, à l'eau claire puis à l'alcool. La surface de travail sera nettoyée à l'eau de javel puis séchée. Le tissu pour extraction est séché en tamponnant avec une serviette en papier afin de bien absorber l'alcool contenue dans les tissus. Il est ensuite placé en tube d'extraction dans une plaque à 96 tubes contenant du tampon de digestion.

- Extraction d'ADN

Les tissus et les protéines sont d'abord digérés dans 150 µl de NucPrep Digestion Buffer et 50 µl de NucPrep Proteinase K Solution, puis placés dans un thermomixer Eppendorf Confort pendant 12 heures à 55°C avec une agitation réglée à 500 tours par minute. L'ensemble des opérations d'extraction se fait sur des plaques de 96 puits adaptées au système ABI PRISM 6100 (Applied Biosystem). Les ADN totaux sont déposés sur une membrane de silicate préalablement humidifiée au NucPrep Digestion Buffer. Cette membrane chargée positivement retient l'ADN tandis que les produits de la lyse cellulaire sont filtrés trois fois avec 160 µl de solution tampon à base d'éthanol. Les ADN sont ensuite

décrochés de la membrane et récupérés par variation de pH des deux tampons d'élution (volume totale d'élution de 160µl). L'ADN extrait est ensuite conservé au congélateur à -20° dans des plaques Matrix de tube 2D. Cette méthode efficace en terme de rendement assure une bonne conservation de l'ADN. L'enregistrement de code-barres 2D pour chaque tube de la plaque matrix, s'effectue par un scanne de la plaque Matrix. La numérisation est ensuite importée dans un fichier Excel. Cette donnée est attachée au n° d'inventaire unique du MNHN et à une plaque de tube 2D.

- Amplification et analyse génétiques

Le gène mitochondrial de la Cytochrome Oxidase I (COI) et le gène nucléaire 28S ont été amplifié par PCR (Polymerase Chain Reaction) à l'aide d'un thermocycleur TRIO-thermoblock (Biometra, Allemagne). Des sondes universelles ou bien des sondes spécifiques aux espèces étudiées ont été utilisées dans un volume réactionnel avec une programmation précise pour chaque gène (voir les articles dans les chapitres qui suivent). Le séquençage a été réalisé par Eurofins-Paris.

Le nettoyage des séquences a été réalisé avec le logiciel Codon Code Aligner version 4.0.4 et l'alignement des séquences réalisé avec le logiciel ClustalX implémenté dans BioEdit version 7.0.5.3 (Larkin *et al.* 2007). La vérification de la correspondance entre les chromatogrammes et les séquences de chaque individu été faite à chaque fois. Ensuite, une matrice de distance génétique et un histogramme des distances génétiques sont réalisés pour chaque genre étudié (voir les articles pour plus de détails).

Pour détecter les contaminations, les matrices de distances établies seront utilisées pour construire des arbres de Neighbour-Joining avec le logiciel MEGA 6. Ces arbres seront enracinés par des groupes externes variables en fonction du taxon analysé. Pour établir la robustesse des groupes mis en évidence sur les arbres, une analyse non-paramétrique de 1000 bootstraps est établie (Jobb *et al.* 2004).

Les analyses basées sur la méthode d'inférence Bayésienne sont réalisées par la suite à l'aide du logiciel MrBayes 3.2 (Ronquist & Huelsenbeck 2003) afin de confirmer les groupes reconnus par la méthode de délimitation d'espèce « Automatic Barcode Gap Discovery, ABGD » (Puillandre 2012). Les paramètres choisis pour cette analyse sont de 50.000.000 ou 30.000.000 générations (voir les articles), la fréquence d'échantillonnage est de 1 sur 100 et la température est de 0.02. La convergence des analyses est contrôlée par le logiciel Tracer 1.4.1 (Rambaut & Drummond 2007). L'arbre consensus majoritaire et la distribution des probabilités postérieures (PP) des arbres sont calculés à partir de l'ensemble des arbres, après

élimination des premières générations (25% de l'échantillonnage). Selon les jeux de données analysés un seul (GTR+G+I) ou différents modèles d'évolution nucléotidiques ont été utilisés (voir articles).

CHAPITRE III

DIVERSITE CRYPTIQUE CHEZ LES VETIGASTROPODA
(FISSURELLIDAE ET TROCHIDAE)

*« Entendre ou lire sans réfléchir est une occupation vaine;
réfléchir sans livre ni maître est dangereux ».*Confucius

3.1 Le genre *Diodora* en Méditerranée orientale (Mollusca, Gastropoda, Fissurellidae): nouvelle perspective taxonomique et endémisme dans le golfe de Gabès

Le genre *Diodora* a une vaste distribution géographique et fréquente presque toutes les régions du monde. Il fréquente les milieux tropicaux et tempérés et vit sous les pierres et sur les faces cachées des rochers (Fig. 7). Les espèces sont gonochoriques avec des sexes séparés et une fécondation externe (Gofas *et al.* 2011a). Le développement des jeunes se fait à l'intérieur des œufs et il n'y a pas de phase larvaire pélagique (Tourenne *et al.* 2014). La coquille possède une forme générale conique, percée d'un orifice et l'animal est dépourvu d'opercule.

Sans considérer les deux espèces lessepsiennes de l'Indo-Pacifique signalées par Barash *et al.* 1992 et Mienis 2002 le long des côtes du bassin Levantin (*Diodora rupellii* GB Sowerby I 1834 et *D. funiculata* Reeve 1850), le nombre des espèces reconnues en Méditerranée est instable. Il varie entre 3 et 6 espèces. Cependant, la délimitation taxonomique de ces espèces est basée principalement (ou uniquement) sur les caractères externes de la coquille avec une approche souvent typologique. Les 3 espèces classiquement reconnues sont: *Diodora graeca* (Linnaeus, 1758), *D. italica* (Defrance, 1820), *D. gibberula* (Lamarck, 1822). Le statut taxonomique des autres taxons, *D. dorsata* (Monterosato, 1878) et *D. producta* (Monterosato, 1880) par exemple est incertain. Elles sont considérées comme deux espèces valides par Giannuzzi-Savelli *et al.* 1994, Buzzurro & Russo 2005) ou deux espèces douteuses par Sabelli *et al.* 1992. Récemment, une autre espèce (*Diodora demartinorum* Buzzurro & Russo, 2005) a été décrite du golfe de Gabès et de la mer Egée. Cette espèce est considérée comme valide par Delongueville & Scaillet (2006) et Cecalupo *et al.* 2008. Vue la forte ressemblance morphologique de ces espèces du genre *Diodora*, la taxonomie classique qui se base essentiellement sur les caractères de la coquille, apparaît insuffisante pour statuer sur leur validité. En fait, aucune étude phylogénétique n'a jusqu'à présent été consacrée au *Diodora* de la Méditerranée. On notera seulement une étude génétique globale des Fissurellidae Aktipis & Giribet (2011) qui incluent deux taxons méditerranéens *Diodora graeca* et *D. gibberula*.

Différentes populations de Méditerranée orientale du genre *Diodora* ont été séquencées (analyses du COI et du 28S) afin d'évaluer le statut des espèces. Elles représentent 5 espèces morphologiquement proches préalablement identifiées comme: *D. demartinorum*, *D. italica*, *D. gibberula*, *D. dorsata*, *D. graeca*. Il apparaît que ces cinq espèces sont valides mais l'analyse fait ressortir une sixième espèce décrite dans l'article

soumis (voir ci-dessous) et provenant de mer Egée (île de Limnos). Il est par ailleurs confirmé que *D. demartiniurum* est une espèce apparemment endémique au golfe de Gabès. Cependant, l'histoire géologique trop récente des fonds littoraux de la petite Syrte (le golfe de Gabès) semble peu compatible au développement de néo-endémisme ; il est donc suspecté qu'en réalité la Grande Syrte, encore quasiment inexplorée malacologiquement, est de fait le vrai centre d'endémisme de cette partie de la méditerranée. La Grande Syrte (côtes de Lybie) aurait donc irrigué le golfe de Gabès de ses endémiques à la fin du Quaternaire parallèlement aux remontées du niveau marin.

Ces résultats ont été publiés au journal JMBA sous le titre «**New insights in the taxonomy of Mediterranean *Diodora* (Mollusca, Gastropoda, Fissurellidae)**» (Article 1)

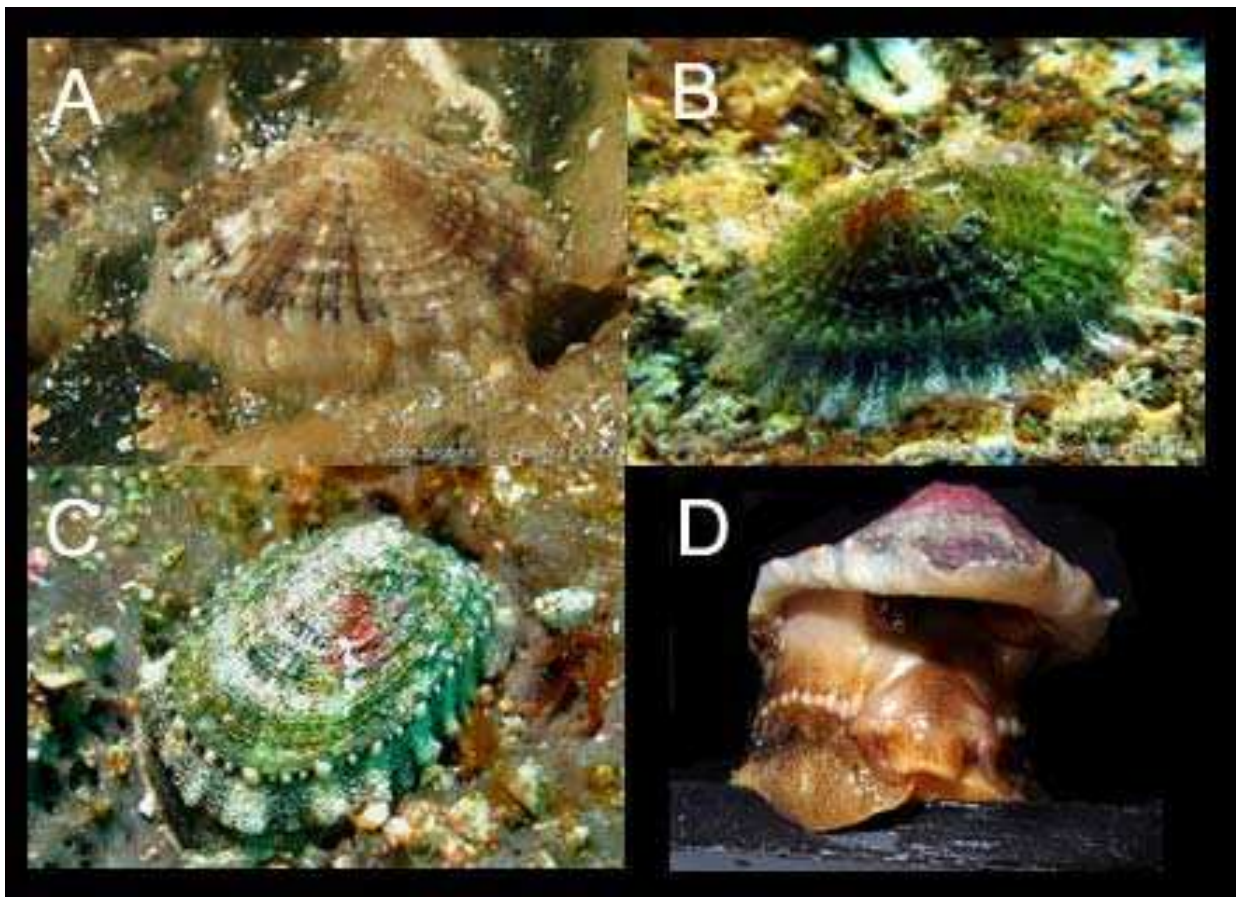


Figure 7. *Diodora graeca* sur son substrat rocheux. A. en Bretagne, B. en Méditerranée (d'après Tourenne *et al.* 2014). *Diodora italica* : mer Adriatique (C), (Anne Frijsinger & Mat Vestjens, consulté 2016 www.natuurlijkmooi.net); golfe de Gabès (D).

New insights in the taxonomy of Mediterranean *Diodora* (Mollusca, Gastropoda, Fissurellidae)

CHRIFA AISSAOUI^{1,2}, NICOLAS PUILLANDRE³ AND PHILIPPE BOUCHET¹

¹Institut de Systématique, Évolution, Biodiversité ISYEB – UMR 7205 – CNRS, MNHN, UPMC, EPHE, Muséum national d'Histoire naturelle, Sorbonne Universités, 55 rue Buffon, F-75005, Paris, France, ²Université de Carthage, Unité Hydrobiologie littorale et limnique, Laboratoire de Biosurveillance de l'Environnement, Faculté des Sciences de Bizerte, 7021 Jarzouna, Tunisie,

³Institut de Systématique, Évolution, Biodiversité ISYEB – UMR 7205 – CNRS, MNHN, UPMC, EPHE, Muséum national d'Histoire naturelle, Sorbonne Universités, 43 rue Cuvier, F-75005, Paris, France

The taxonomy of Mediterranean populations of Diodora is assessed based on new molecular (COI and 28S) data. The recently described Diodora demartiniorum Buzzurro & Russo, 2005, is found to be a valid species restricted to the Gulf of Gabès (Tunisia) but possibly occurring also on the coast of Libya. However, specimens from the Aegean Sea previously identified as D. demartiniorum are molecularly (and morphologically pseudocryptically) distinct and represent a previously unrecognized species here described as D. giannispadai n. sp. It is hypothesized that the current distribution of these two species corresponds to glacial refuges during Pleistocene climate changes.

Keywords: Fissurellidae, *Diodora*, endemism, Gulf of Gabès, Aegean Sea, new species

Submitted 14 January 2016; accepted 6 June 2016

INTRODUCTION

The family Fissurellidae includes 55 genera and over 500 valid species (WoRMS, 2016). Although fissurellids have been routinely included in phylogenetic analyses of (veti)gastropods (e.g. Harasewych *et al.*, 1997; Colgan *et al.*, 2000, 2003; McArthur & Harasewych, 2003; Geiger & Thacker, 2005; Aktipis & Giribet, 2010) taxon sampling has been very loose; these studies included just one or a few fissurellid species. The genus *Diodora* occurs in tropical and temperate shallow waters all over the world, and three species have been classically recognized in the Mediterranean (Bucquoy *et al.*, 1882–1886 (as *Fissurella*); Ghisotti & Melone, 1969; Sabelli *et al.*, 1990, 1992; Poppe & Goto, 1991): *Diodora graeca* (Linnaeus, 1758), *D. italica* (Defrance, 1820) and *D. gibberula* (Lamarck, 1822). Two further taxa *D. dorsata* (Monterosato, 1878) and *D. producta* (Monterosato, 1880) listed as 'doubtful species' by Sabelli *et al.* (1992) were treated as valid by Giannuzzi-Savelli *et al.* (1994) and Buzzurro & Russo (2005). In addition, a couple of Indo-Pacific migrants, *Diodora rupellii* (G. B. Sowerby I, 1834) and *D. funiculata* (Reeve, 1850), are also recorded from the Mediterranean, but – as is frequent with Lessepsian migrants (Zenetos *et al.*, 2010) – are restricted to the coasts of the Levant (Barash & Danin, 1992; Mienis, 2002). Whereas no new fissurellid had been discovered in the Mediterranean since the 19th century, a sixth native species, *Diodora demartiniorum* Buzzurro & Russo, 2005,

was quite unexpectedly recently described from the Gulf of Gabès and the Aegean Sea. Its status as a valid species was accepted by Delongueville & Scaillet (2006) and Cecalupo *et al.* (2008). The subtlety of shell characters used to delimit species of fissurellids, in general, and of *Diodora* in particular, explains why the status of *D. producta* or *D. dorsata* has remained uncertain for over a century (listed as 'doubtful species' by Sabelli *et al.* (1992) but treated as valid by Giannuzzi-Savelli *et al.* (1994) and Buzzurro & Russo (2005)), as it requires considerable personal experience to discriminate Mediterranean *Diodora* species beyond the 'classical three' (*D. graeca*, *D. italica*, *D. gibberula*). The state of the art of Mediterranean *Diodora* taxonomy is thus to recognize 4–6 native and two introduced species, all exclusively discriminated based on shell characters. The comprehensive molecular fissurellid phylogeny by Aktipis *et al.* (2011) included 30 terminal taxa, of which two were Mediterranean species of *Diodora* (*D. graeca*, *D. gibberula*), but the purpose of these authors was not to discuss species-level systematics.

Diodora demartiniorum is one of 33 mollusc species currently regarded as valid and endemic to the Gulf of Gabès (Cecalupo *et al.* 2008). All were defined exclusively based on shell characters, and the only molecular approach to the systematics of putative Gulf of Gabès endemics is by Barco *et al.* (2013). Targeting the small muricids of the genus *Ocenebrina*, they recovered some species as valid and others as synonyms. In this context, the purpose of the present work is to revisit the status and distribution of the Mediterranean species of *Diodora* using molecular markers: Is *D. demartiniorum* a valid species? What is the status of the populations of *D. demartiniorum* from the Aegean Sea that have been attributed to it?

Corresponding author:

C. Aissaoui

Email: chrifaissaoui@yahoo.fr

MATERIALS AND METHODS

Samples and primary morphological identifications

Live animals were collected specifically for this work from the Gulf of Gabès (Djerba, Tunisia; 9 specimens, personal collects, 2012 and 2013); the Alboran Sea (Cabo de Palos and El Mohon, Prov. of Murcia, Spain, 2 specimens; Islas Chafarinas, off Morocco, 1 specimen; J. Esteban leg. 2014); and the Aegean Sea (Gulf of Strimonikos and Limnos I., Greece; 3 specimens; K. Papavasileiou leg. 2014) (Figure 1). The soft parts were detached from the shell and preserved for molecular analysis in 95–98% ethanol. The shell was photographed, morphologically identified by Gianni Spada, Paolo Russo and/or Marco Oliverio, and catalogued as a voucher in Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN, Paris) (Tunisian and Greek material) or Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN, Madrid) (Spanish material).

The locality data, voucher catalogue numbers and GenBank accession numbers for each of the 15 specimens are presented in Table 1.

In addition, to increase the size of the dataset analysed, the sequences of seven Mediterranean specimens of *Diodora* produced by Giribet & Wheeler (2002) and Aktipis *et al.* (2011) were downloaded from GenBank. We found problems with the specimen corresponding to the sequence HM771613.2 identified by Aktipis *et al.* (2011) as *D. graeca* fell with specimens identified by them as *D. cayenensis* (a species from the tropical western Atlantic). After correspondence with the authors, we concluded that contamination and/or misidentification was responsible for this result, and we decided to discard this sequences from our analyses. Further, the two specimens corresponding to the sequences AF120632 and AY923915 identified as *D. graeca* respectively by Giribet & Wheeler (2002) and by Geiger & Thacker (2005), fell with specimens identified by Aktipis & Giribet (2010) (and also by us) as *D. gibberula*, and we have also decided to discard these

sequences in our analyses. This leaves four specimens from GenBank with reliable and usable sequences.

Sequencing and amplification

DNA was extracted from a piece of muscle tissue using the DNeasy 96 Tissue kit (Qiagen). A fragment of Cytochrome Oxidase I (COI) mitochondrial gene and a fragment of 28S rDNA nuclear gene were amplified using respectively universal primers LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATT GG-3') and HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACC AAAAAATCA-3') (Folmer *et al.*, 1994), and C1' (5'-ACCCGC TGAATTTAAGCAT-3') (Jovelín & Justine, 2001) and D2 (5'-TCCGTGTTTCAAGACGG-3') (Dayrat *et al.*, 2001). All PC R reactions were performed in 25 µl, containing 3 ng of DNA, 1× reaction buffer, 2.5 mM MgCl₂, 0.26 mM dNTP, 0.3 µM of each primer, 5% DMSO and 1.5 units of Q-Bio Taq, QBiogene. Thermocycles consisted of an initial denaturation step at 94°C for 4 min, followed by 40 cycles of denaturation at 94°C for 30 s, annealing at 48°C for COI gene and 60°C for 28S rDNA gene for 40 s and extension at 72°C for 1 min. The final extension was at 72°C for 5 min. PCR products were purified and sequenced by the Eurofins sequencing facility. Both directions were sequenced to confirm accuracy of each sequence.

Phylogenetic analyses

COI and 28S genes were edited using Codon Code Aligner version 4.0.4, and automatically aligned using Clustal W implemented in BioEdit version 7.0.5.3 (Larkin, 2007). The accuracy of automatic alignments was confirmed by eye. To delimit species an online version available at <http://www.abi.snv.jussieu.fr/public/abgd/> of the Automatic Barcode Gap Discovery method (ABGD; Puillandre *et al.*, 2012) was used, with default parameters. It automatically detects, when present, a gap in the pairwise distribution of the genetic distances calculated between each pair of specimens. This gap, referred to as the barcode gap, is supposed to correspond to a



Fig. 1. Location of the localities of Mediterranean fissurellids discussed in this paper.

Table 1. List of species, collection locality, specimen voucher numbers and GenBank accession numbers.

Species	Locality	Voucher number	COI numbers	28S numbers
<i>Diodora gibberula</i> (Lamarck, 1822)	Girona, Spain	DNA102554	HM771614	HM771493
<i>Diodora gibberula</i> (Lamarck, 1822)	Tossa de Mar, Spain	DNA101154	HM771615	HM771494
<i>Diodora gibberula</i> (Lamarck, 1822)	Girona, Spain	DNA101961	GQ160752	GQ160637
<i>Diodora gibberula</i> (Lamarck, 1822)	Girona, Spain	DNA103317	---	HM771492
<i>Diodora graeca</i> (Linnaeus, 1758)	Cabo de Palos, Murcia, Spain	MNCN 85530	*****	*****
<i>Diodora graeca</i> (Linnaeus, 1758)	Elmohon, Murcia, Spain	MNCN 85531	*****	---
<i>Diodora gibberula</i> (Lamarck, 1822)	Islas Chafarinas, Spain	MNCN 85532	*****	---
<i>Diodora italica</i> (Defrance, 1820)	Sidi Jmour, Djerba, Gulf of Gabès, Tunisia	IM-2013-31730	*****	---
<i>Diodora italica</i> (Defrance, 1820)	Sidi Jmour, Djerba, Gulf of Gabès, Tunisia	IM-2013-31824	*****	---
<i>Diodora italica</i> (Defrance, 1820)	Sidi Jmour, Djerba, Gulf of Gabès, Tunisia	IM-2013-31826	*****	---
<i>Diodora italica</i> (Defrance, 1820)	Sidi Jmour, Djerba, Gulf of Gabès, Tunisia	IM-2013-31827	*****	---
<i>Diodora italica</i> (Defrance, 1820)	Sidi Jmour, Djerba, Gulf of Gabès, Tunisia	IM-2013-31967	*****	*****
<i>Diodora italica</i> (Defrance, 1820)	Houmet Souk, Djerba, Gulf of Gabès, Tunisia	IM-2013-31973	*****	*****
<i>Diodora demartiniorum</i> Buzzurro & Russo, 2005	Sidi Jmour, Djerba, Gulf of Gabès, Tunisia	IM-2013-31829	*****	---
<i>Diodora demartiniorum</i> Buzzurro & Russo, 2005	Sidi Jmour, Djerba, Gulf of Gabès, Tunisia	IM-2013-31972	*****	*****
<i>Diodora demartiniorum</i> Buzzurro & Russo, 2005	Sidi Jmour, Djerba, Gulf of Gabès, Tunisia	IM-2013-31823	*****	*****
<i>Diodora giannispadai</i> n. sp. (present study)	Limnos Island, North Aegean Sea, Greece	IM-2013-32768	---	*****
<i>Diodora giannispadai</i> n. sp. (present study)	Limnos Island, North Aegean Sea, Greece	IM-2013-32769	---	*****
<i>Diodora dorsata</i> (Monterosato, 1878)	Strimonikos, North Aegean Sea, Greece	IM-2013-32767	*****	*****
Outgroups				
<i>Emarginula octaviana</i> Coen, 1939	Girona, Spain	DNA103540	HM771604	HM771476
<i>Fissurella nubecula</i> (Linnaeus, 1758)	Houmt Souk, Djerba, Gulf of Gabès, Tunisia	IM-2009-30650	*****	*****
<i>Fissurella nubecula</i> (Linnaeus, 1758)	Vilanova, Spain	DNA102544	HM771625.1	---

threshold between intra- and interspecific distances and is used to propose species hypotheses. For each gene, a phylogenetic tree was built, using Bayesian Analysis (BA), consisting of six Markov chains (5,000,000 generations each with a sampling frequency of one tree each hundred generations) run in two parallel analyses using MrBayes version 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). The chain temperature was set at 0.2. When the log-likelihood scores were found to stabilize, a consensus tree was calculated after omitting the first 25% trees as burn-in.

RESULTS

Molecular analysis

We obtained 16 COI sequences (13 newly produced, three from GenBank), and 28S sequences for 12 (eight newly produced, four from GenBank); we have not been able to obtain sequences for both loci in some specimens. The COI sequences resulted in a 658 bp alignment. The pairwise distance values are presented in Table 2. The Bayesian tree (Figure 2A) shows five different lineages, (a) to (e), each recognized as a distinct species hypothesis by ABGD and each including sequences separated by genetic distances lower than 3% (and often 1% or less). Sequences from different groups are separated by genetic distances greater than 5%. When including several specimens, each lineage corresponds to a well-supported clade (Posterior Probabilities $PP > 0.98$). The first clade ($PP = 1$) corresponds to a group (a) which includes two specimens from Spain that diverge from all the other species hypotheses. The second clade ($PP = 0.99$) includes four genetic groups (b to e), of which (b) from Djerba ($PP = 0.99$) is sister to the other three together and separated from them by COI distances $> 10\%$. The remaining three genetic

groups (c, $PP = 0.99$; d, $PP = 1$; e, $PP = 0.98$) are separated by genetic distances around 7%; two closely related clades contains specimens collected respectively in Spain and Strimonikos (Northern Aegean Sea) and the last group contains only one specimen.

Using the *a priori* identifications, the COI groups are morphologically identifiable as, respectively, (a) *D. graeca*, (b) *D. demartiniorum*, (c) *D. italica*, (d) *D. gibberula* and (e) *D. dorsata*. There is no material identifiable as *D. producta*.

The 12 remaining 28S sequences resulted in a 700 bp alignment. Although not all specimens were successfully sequenced for both COI and 28S, the same highly supported ($PP > 95$) clades (a, b, c, d and e) are found (Figure 2B), now with the addition of a sixth group (f) corresponding to specimens morphologically identifiable as *D. demartiniorum* from Limnos Island (no COI sequences could be obtained for the latter).

Altogether, the molecular data unambiguously indicate the following:

- (1) They confirm the distinctiveness of the three 'classical' species (*D. graeca*, *D. italica*, *D. gibberula*).
- (2) They confirm the validity of *D. demartiniorum* based on specimens from the type locality, and suggest a further cryptic species corresponding to clade (f) from Limnos Island and morphologically identified as '*D. demartiniorum*'.
- (3) They suggest the existence of further species of *Diodora* in the Mediterranean (one specimen in Figure 2 tentatively identified as *D. dorsata*, see below).

SYSTEMATICS

Superfamily Fissurelloidea Fleming, 1822

Family Fissurellidae Fleming, 1822

Genus *Diodora* Gray, 1821

Diodora demartiniorum Buzzurro & Russo, 2005
(Figures 3E–H)

Table 2. Kimura 2-parameter distance matrix for COI sequences of *Diodora* specimens.

[illegible]

TYPE DATA

Holotype, 39.8 × 22.1 mm, Mo27083 Museo Civico di Storia Naturale, Milano. Type locality: Djerba, Tunisia; shallow subtidal. Many paratypes from Djerba in various private collections. Paratypes from Samothrace and Limnos in collections F. Rubio and P. Russo.

MATERIAL EXAMINED

Six specimens (three sequenced, MNHN IM-2013-31972, IM-2013-31823, IM-2013-31829; three not sequenced, IM-2013-32084, IM-2013-32039 and IM-2013-32115) from Djerba; intertidal and shallow subtidal.

DESCRIPTION (BASED ON SEQUENCED AND

NON-SEQUENCED ADULT SPECIMENS FROM DJERBA)
Shell limpet-shaped, solid, elongated, sculptured with 75 to 78 equal, closely and evenly spaced primary radial ribs, and secondary riblets in their interspaces. Anal pore rounded-elongated, very broad, length 4.8–5.0 mm, distance to anterior and posterior shell edge respectively 10–12 mm and 23–25 mm. Peristome totally adherent to the plane. Inner background colour beige, darker apically; outer shell surface dark grey with greenish bands radiating from the apex. Dimensions of the shell: (mean) length 35 mm, width 21 mm, height 7.5 mm.

DISTRIBUTION

In the original description of *D. demartiniorum*, Buzzurro & Russo (2005) included specimens from the Aegean (Limnos, Samothrace, Strimonikos). The latter are more likely to be *D. giannispadai*, and *D. demartiniorum* ends up endemic to the Gulf of Gabès. Beside various localities on the NW coast of Djerba, *D. demartiniorum* is also reported from Kerkennah Islands by Cecalupo *et al.* (2008), who declare it 'poco comune'. A shell from Tripoli (Libya) illustrated by Giannuzzi-Savelli *et al.* (1994; fig. 61) as *D. producta* resembles very much *D. demartiniorum*, and may very well be conspecific. The record from Iskendrun (Delongueville & Scaillet, 2006) needs to be checked since it may possibly concern *D. giannispadai* (see below).

Diodora italica (Defrance, 1820)
(Figure 2I)

TYPE DATA

The name *Fissurella italica* was established by DeFrance for fossils from the 'Plaisantin' (Piacenzian; upper Pliocene) of northern Italy. The DeFrance collection was destroyed during the bombing of Caen during WWII. Based on our examination of topotypical material, the name appears to be applicable to the Recent Mediterranean species. The name *Fissurella neglecta* Deshayes, 1830, which was established for Recent shells from Sicily, is considered a synonym, which is confirmed by our examination of six syntypes (MNHN IM-2000-4789).

MATERIAL EXAMINED

Six specimens (MNHN IM-2013-31824, IM-2013-31827, IM-2013-31730, IM-2013-31826, IM-2013-31967, IM-2013-31973), all sequenced, from Djerba, intertidal and shallow subtidal.

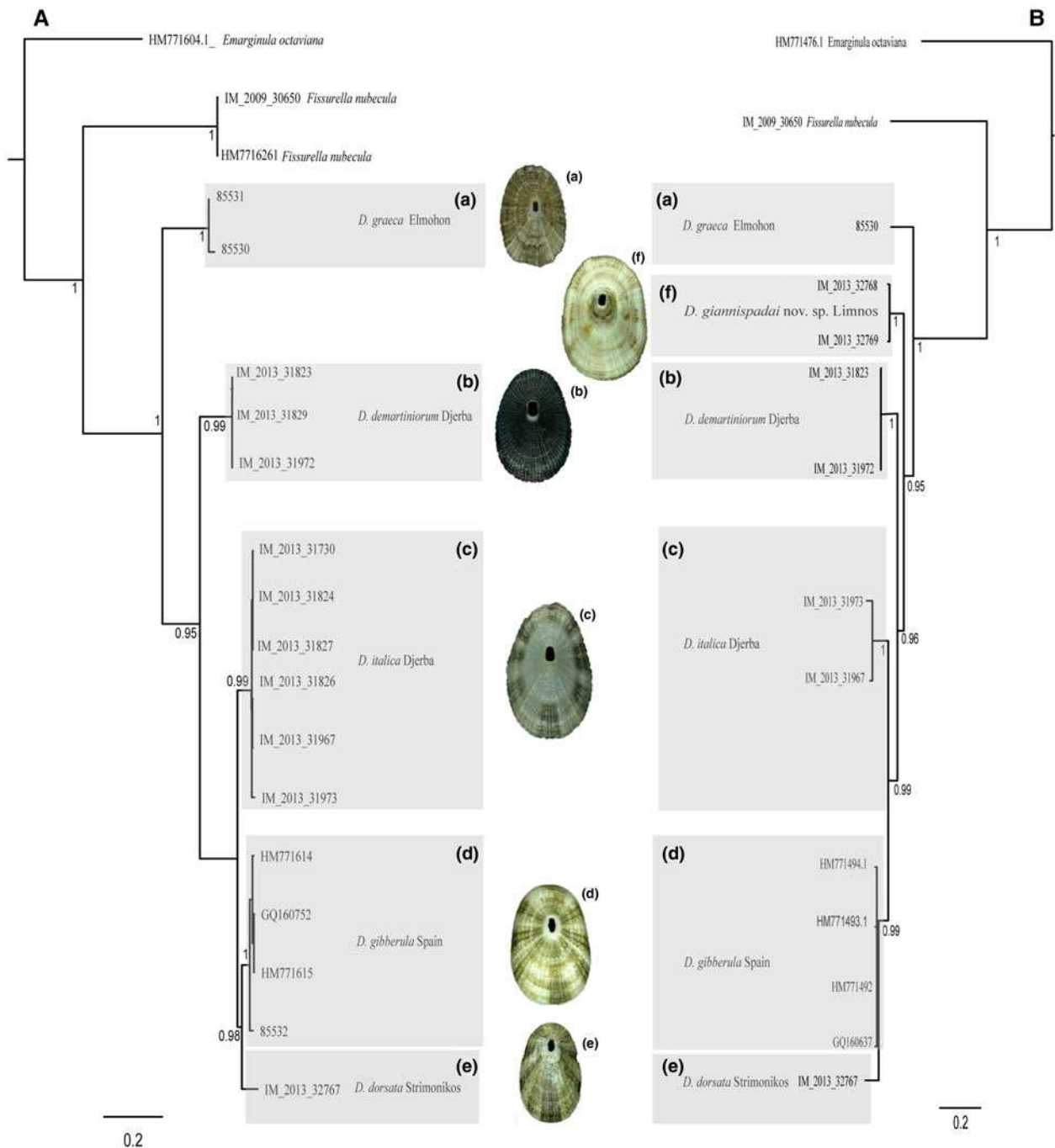


Fig. 2. Bayesian trees of COI (A) and 28S (B) genes. Probabilities (superior to 0.5) and bootstrap values (superior to 50) are given for each node. Genetics groups are lettered from (a) to (f).

DISTRIBUTION

Throughout the Mediterranean. Distribution in the eastern basin and Aegean Sea not known in detail.

DESCRIPTION (BASED ON SEQUENCED ADULT SPECIMENS FROM DJERBA)

Shell limpet-shaped, markedly narrower towards the anterior part, solid, elongated, sculptured with 28 to 36 widely spaced primary radial ribs, irregularly shaped, with secondary riblets in their interspaces. Anal pore up to 4–6 mm long, distance to anterior and posterior shell edge respectively 15–16 mm, and 26–27 mm. Peristome concave, non-adherent to the plane.

Inner background colour uniformly beige; outer shell surface cream with visibly darker bands radiating from the apex. Dimensions of the shell: length 38–40 mm, width 21–22 mm, height 7.5–8 mm.

Diodora giannispadai sp. nov.
(Figures 2A–D)

TYPE MATERIAL

Holotype, a sequenced specimen, MNHN IM-2013-32769; paratype MNHN IM-2013-32768.

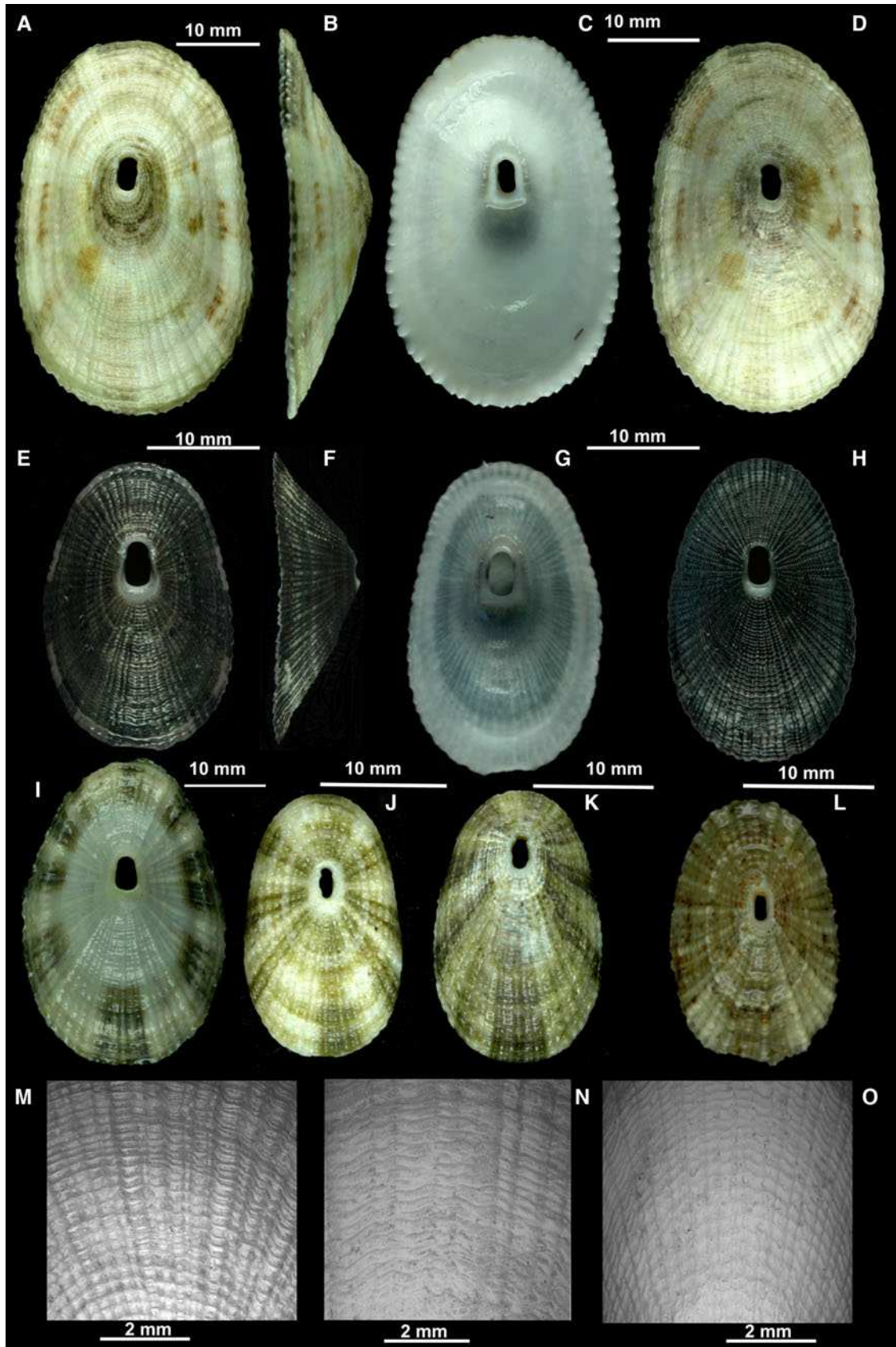


Fig. 3. Shells of Mediterranean fissurellids sequenced. A–C: *Diodora giannispadai* n. sp. (holotype, MNHN 2013-32769). Limnos Island. D: *Diodora giannispadai* n. sp. (paratype, MNHN 2013-32768). Limnos Island. E–H: *Diodora demartiniorum*. Djerba (MNHN IM-2013-31972, IM-2013-31829). I: *Diodora italica*. Djerba. (MNHN IM-2013-31967). J: *D. gibberula*. Islas Chafarinas. Spain (MNCN 85532). K: *D. dorsata*. Strimonikos. Greece (MNHN IM-2013-32767). L: *D. greaca*. Cabo de Palos. Murcia. Spain (MNCN 85530). M: ribs of *D. italica* (MNHN IM-2013-31967). N: ribs of *Diodora giannispadai* n. sp. (holotype, MNHN 2013-32769). O: ribs of *D. demartiniorum*. Djerba (MNHN IM-2013-31972).

TYPE LOCALITY

Limnos I., Greece (39°55'N, 25°15'E); shallow subtidal.

DIAGNOSIS

Shell sculptured with widely spaced primary radial ribs and secondary riblets in the interspaces. Peristome totally adherent to the plane. Anal pore elongated, broad.

DESCRIPTION (OF HOLOTYPE)

Shell limpet-shaped, very solid, elongated, sculptured with 70 unequal, widely and evenly spaced primary radial ribs and secondary riblets in their interspaces. Anal pore elongated, broad, length 7 mm long, distance to anterior and posterior shell edge respectively 15 and 30 mm. Peristome slightly concave, especially in anterior part. Inner background colour evenly light beige; outer shell surface cream with darker, greenish to brownish, bands radiating from the apex. Dimensions of the holotype: length 45.0 mm, width 28.0 mm, height 13.6 mm; paratype: length 48.0 mm, width 30.0 mm, height 13.6 mm.

REMARKS

Diodora giannispadai differs from *D. demartiniorum* and *D. italica* by its broadly spaced ribbed with secondary riblets in between; the concentric (commarginal) cords may also be fewer and more widely spaced, although there are too few specimens to judge intraspecific variation (Table 3). Specimens of *D. italica* occasionally reach 52 mm at least in the northern Adriatic (Buzzurro & Russo 2005), and are comparable in size to *D. giannispadai*, but *D. demartiniorum* from the Gulf of Gabès rarely exceeds 35 mm and appears to be smaller on average.

DISTRIBUTION

Beside the sequenced holotype and paratype from Limnos, specimens from Strimonikos (coll. P. Mel, cited by Buzzurro & Russo 2005; not seen), Samothrace (coll. F. Rubio; not seen) and Simi (Giannuzzi-Savelli *et al.*, 1994, as *D. italica*) are very probably referable to the new species: the first two localities are in the North Aegean near the type locality, while Simi (also spelled Symi) is in the south-eastern part of the Aegean Sea. It is not known which other species of *Diodora* *D. giannispadai* is syntopic or sympatric with. Manousis (2012) illustrates *D. demartiniorum*, *D. dorsata*, *D. gibberula*, *D. graeca*, *D. italica* and *D. producta* from Greece, but gives no details on their distribution within Greek waters. The material from Iskendrun (Turkey) referred to *D. demartiniorum* by Delongueville & Scaillet (2006) may or may not be conspecific; its identity should be verified with molecular markers.

ETYMOLOGY

The new species is named after Gianni Spada, a longtime promoter of Mediterranean malacology in the heydays of Società Malacologica Italiana, and a participant of fieldwork in the Gulf of Gabès in 1982 with the senior author, and again in 2013 with the first author. Gianni generously helped the present project with identifications, advice and opinions.

DISCUSSION

The same divergent monophyletic groups are discriminated by the COI and 28S genes and they are congruent with the shell characters classically used to identify Mediterranean keyhole limpets, even though three of these groups are morphologically similar to each other: clade b (*Diodora demartiniorum*) from the Gulf of Gabès, clade c (*D. italica* from the Gulf of Gabès, Figure 3I), clade f (*D. giannispadai* from the Aegean Sea). As there is congruence between the mitochondrial dataset, nuclear dataset and shell morphology, we treat these three groups as three distinct species.

Diodora italica and *D. demartiniorum* were collected syntopically in Djerba and they are separated by COI distances greater than 10%, well over the threshold commonly found (i.e. > 3%) between different gastropod species (Hebert *et al.*, 2003; Puillandre *et al.*, 2009; Crocetta *et al.*, 2012; Barco *et al.*, 2013), and well over the threshold found between the other *Diodora* species in our dataset. As they are also recognizable by subtle, but constant morphological differences, there is no doubt that they are two separate species. The 28S data also indicate that the Aegean Sea specimens morphologically identified as *D. demartiniorum* are not conspecific with *D. demartiniorum* from the type locality, the Gulf of Gabès. As no name is available to designate this North Aegean species, it has been described as new.

The status of the other Mediterranean *Diodora* is more problematic. Our data are sufficient to show that there are more species of *Diodora* in the Mediterranean, but how many and what names should be applied to them can of course not be determined from the single specimen in our molecular dataset. Its identification as *D. dorsata* (Figure 3K) is tentative, and the whole issue should be revisited with more specimens from more localities.

As emphasized already by Sabelli & Taviani (1981), the Gulf of Gabès is geologically very young. During the last glacial maximum and resulting low sea levels, the shallow Gulf was completely exposed, and it can be reasonably assumed that the Gabès ecosystem, as we know it today, is not older than 6000–8000 years when sea level rose sufficiently to flood the exposed platform (Morhange & Pirazzoli, 2005; Barco *et al.*, 2013). Quoting Barco *et al.* (2013) who tested the validity and endemism of the small muricid *Ocenebrina hispidula*, there are several possible hypotheses on the putative Gulf of Gabès endemics: (1) it is a distinct species that has originated elsewhere and is now restricted to the Gulf; (2) it is a distinct species that has originated elsewhere, has colonized the Gulf and is also present elsewhere in the Mediterranean; (3) it is a distinct species that has originated in the Gulf very recently; or (4) it is not a distinct species, and the Gulf of Gabès populations are merely ecophenotypes resulting from the extreme environmental conditions in the Gulf. Our results confirm the validity of *D. demartiniorum*, and therefore exclude hypothesis (4) above. However, just like Barco *et al.* (2013), our results do not positively favour one or the other of hypotheses (1) – (3). The possible occurrence of *D. demartiniorum* in Tripoli (Libya) (Giannuzzi-Savelli *et al.*, 1994, see above) suggests that the range of *D. demartiniorum* includes the Gulf of Syrte. The Gulf of Syrte has a narrow continental shelf that drops quickly to deep water, and thus has always remained marine during Glacial low sea levels. We hypothesize that *D. demartiniorum* in fact originated in the Gulf of Syrte during Pleistocene low sea levels and subsequently

Table 3. Comparative morphological data of the shells of Mediterranean *Diodora*.

	<i>D. demartiniorum</i>	<i>D. italica</i>	<i>D. giannispadai</i>	<i>D. gibberula</i>	<i>D. dorsata</i>	<i>D. graeca</i>
Average adult dimensions	length 35 mm. width 21 mm. height 7.5 mm	length 39 mm. width 21.5 mm. height 8 mm	length 45.5 mm. width 21.5 mm. height 13.5 mm	length 20 mm. width 12 mm. height 6.2 mm	length 13 mm. width 5 mm. height 3.2 mm	length 21 mm. width 10.5 mm. height 5 mm
Sculpture	75 to 78 equal. closely and evenly spaced primary radial ribs of even size. with 2 secondary riblets per interspace. Commarginal cords fine and evenly spaced	28 to 36 widely spaced primary radial ribs. of uneven size. with 1 to 3 secondary riblets per interspace. Commarginal cords coarse and unevenly spaced	70 unequal. widely and evenly spaced primary radial ribs. with 3 secondary riblets per interspace. Commarginal cords coarse and unevenly spaced	46 to 52 coarse and uneven ribs. with 0 to 3 uneven secondary riblets. Commarginal cords broadly spaced. forming pustules at intersection with ribs	overall sculpture as in <i>D. gibberula</i> . 42 radial ribs	18–20 widely spaced radial ribs with 3 secondary riblets per interspace. Commarginal cords forming a regular reticulation with intersected ribs
Anal pore	rounded-elongated; distance to anterior shell edge 40–52% of distance to posterior shell edge	elongated; distance to anterior shell edge 55–61% of distance to posterior shell edge	elongated; distance to anterior shell edge c. 50% of distance to posterior shell edge	shape variable; distance to anterior shell edge c. 46% of distance to posterior shell	shape variable; distance to anterior shell edge c. 26% of distance to posterior shell edge	elongated. rounded anteriorly and truncated posteriorly; distance to anterior shell edge c. 70% of distance to posterior shell edge
Colour	inner background colour beige. darker apically; outer shell surface dark grey with greenish bands radiating from the apex	inner background colour evenly beige; outer shell surface cream with darker bands radiating from the apex	inner background colour evenly light beige; outer shell surface cream with darker. greenish to brownish. bands radiating from the apex	inner background colour beige; outer shell surface white-yellow with darker bands radiating from the apex	inner background colour evenly beige; outer shell surface light grey with greenish bands radiating from the apex	inner background colour white with outer bands faintly visible through; outer shell surface grey with darker to greenish bands radiating from the apex
Profile	low; peristome adherent to the plane	elevated; convex (peristome not adherent to the plane)	low; peristome adherent to the plane	elevated; convex (peristome not adherent to the plane)	elevated; convex (peristome not adherent to the plane)	elevated; convex (peristome not adherent to the plane)

invaded the Gulf of Gabès. Its apparent endemism there results from a sustained interest by malacologists in the Gulf of Gabès ever since Monterosato (1879) whereas, by contrast, the coasts of Libya remain essentially unexplored and its biota undocumented. The occurrence of another large *Diodora* in the Aegean Sea (and possibly the Gulf of Iskendrun) raises the possibility that populations of *Diodora* remained trapped in various Mediterranean refuges during glacial times, underwent genetic drift and speciated during this/these phase(s) of isolation, as found by other gastropods (e.g. *Dendropoma*, Calvo *et al.*, 2015). In this respect, it is noteworthy that the North Adriatic has at least a couple of endemic molluscs (Sabelli & Taviani, 2013), and it would be most interesting to test genetically the identity of *Diodora italica* from the northern Adriatic which, like the Gulf of Gabès, dried out during glacial times and was subsequently reinvaded.

The systematics of the Mediterranean *Diodoras* thus ends up considerably more complex than the long-accepted three-species group. Beside the recognition of *D. demartiniorum* and *D. giannispadai* as distinct species, the present study also points to the existence of at least another species (here tentatively identified as *D. producta*). Clearly, molecular data for more morphs from more localities are critically needed.

ACKNOWLEDGEMENTS

The material for molecular studies in this paper derived from fieldwork in the Gulf of Gabès conducted specifically for this research, and we are grateful to everyone in the field party, Philippe Maestrati, Emmanuel Vassard, Gianni Spada, Marco Oliverio and Jean Pierre Miquel for their help in sampling. Special thanks go to Kyriakos Papavasileiou who collected specimens in the northern Aegean, and Junes Esteban who collected specimens in Murcia and Chafarinas. Paolo Russo sent photos and offered expert opinion. Virginie Héros, Barbara Buge and Philippe Maestrati helped with the curation of vouchers and access to MNHN historical material. The molecular part of the work was carried out at Service de Systematique Moléculaire (UMS 2700 CNRS, MNHN).

FINANCIAL SUPPORT

This project was partly funded by the MNHN ATM 'Barcode' (PIs: S. Samadi and J.N. Labat).

REFERENCES

- Aktipis S.W., Boehm M. and Giribet G. (2011) Another step towards understanding the slit-limpets (Fissurellidae, Fissurellodea, Vetigastropoda, Gastropoda): a combined five gene molecular phylogeny. *Zologica Scripta* 40, 238–259.
- Aktipis S.W. and Giribet G. (2010) A phylogeny of Vetigastropoda and other 'archaeogastropods': reorganizing old gastropod clades. *Invertebrate Biology* 129, 220–240.
- Barash A. and Danin Z. (1992) *Annotated list of Mediterranean molluscs of Israel and Sinai*. Jerusalem: The Israel Academy of Sciences and Humanities.
- Barco A., Corso A. and Oliverio M. (2013) Endemicity in the Gulf of Gabès: the small mussel drill *Ocenebrina hispidula* is a distinct species in the *Ocenebrina edwardsii* complex (Muricidae: ocenebrinae). *Journal of Molluscan Studies* 79, 273–276.
- Bucquoy E.J., Dautzenberg P. and Dollfus G. (1882–1886) *Les mollusques marins du Roussillon*. Tome I. Gastropodes. Paris: Baillière.
- Buzzurro G. and Russo P. (2005) Notes and comments on the Mediterranean species of the genus *Diodora* Gray, 1821 (Archaeogastropoda: Fissurellidae) with a description of a new species. *Triton* 10, 1–9.
- Calvo M., Alda F., Templado J., Oliverio M. and Machordom A. (2015) Surviving the Messinian salinity crisis: divergence patterns in the genus *Dendropoma* (Gastropoda: Vermetidae) in the Mediterranean Sea. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 91, 17–26.
- Cecalupo A., Buzzurro G. and Mariani M. (2008) Contributo alla conoscenza della malacofauna del Golfo di Gabès (Tunisia). *Quaderni della Civica Stazione Idrobiologica di Milano* 31, 1–175.
- Colgan D.J., Ponder W.F., Beacham E. and Macaranas J.M. (2003) Gastropod phylogeny based on six gene segments from four genes representing coding or non-coding and mitochondrial or nuclear DNA. *Molluscan Research* 23, 123–148.
- Colgan D.J., Ponder W.F. and Egger P.E. (2000) Gastropod evolutionary rates and phylogenetic relationships assessed using partial 28S rDNA and histone H3 sequences. *Zoologica Scripta* 29, 29–63.
- Crocetta F., Bonomolo G., Albano P.G., Barco A., Houart R. and Oliverio M. (2012) The status of the northeastern Atlantic and Mediterranean small mussel drills of the *Ocenebrina aciculata* complex (Mollusca: Gastropoda: Muricidae), with the description of a new species. *Scientia Marina* 76, 177–189.
- Dayrat B., Tillier A., Lecointre G. and Tillier S. (2001) First molecular evidence for the existence of a Tardigrada+Arthropoda clade. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 19, 225–235.
- Delongueville C. and Scaillet R. (2006) *Diodora demartiniorum* Buzzurro & Russo, 2005: extension de sa distribution en Méditerranée orientale. *Novapex, Société 7 (supplément hors série)* 87–88.
- Folmer O., Black M., Hoem W., Lutz R. and Vrijenhoek R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3, 294–299.
- Geiger D.L. and Thacker C.E. (2005) Molecular phylogeny of Vetigastropoda reveals non-monophyletic Scissurellidae, Trochoidea, and Fissurelloidea. *Molluscan Research* 25, 47–55.
- Giannuzzi-Savelli R., Pusateri F., Palmeri A. and Ebbero C. (1994) *Atlante delle conchiglie marine del Mediterraneo*, Volume 1. Rome: La Conchiglia.
- Ghisotti F. and Melone G.C. (1969) Catalogo illustrato delle conchiglie marine del Mediterraneo. *Conchiglie* 5, 1–28.
- Giribet G. and Wheeler W. (2002) On bivalve phylogeny: a high-level analysis of the Bivalvia (Mollusca) based on combined morphology and DNA sequence data. *Invertebrate Biology* 121, 271–324.
- Harasewych M. G., Adamkewicz S. L., Blake J., Saudek D., Spriggs T. and Bult C. J. (1997) Phylogeny and relationships of pleurotomariid gastropods (Mollusca: Gastropoda): an assessment based on partial 18S rDNA and cytochrome c oxidase I sequences. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 6, 1–20.
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L. and Dewaard J.R. (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B* 270, 313–321.
- Jovelín R. and Justine J.L. (2001) Phylogenetic relationships within the Polyopisthocotylean monogeneans (Plathyhelminthes) inferred from

- partial 28S rDNA sequences. *International Journal for Parasitology* 31, 393–401.
- Larkin M.A.** (2007) Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23, 2947–2948.
- Manousis T.** (2012) *The sea shells of Greece*. Athens: Kyriakidis Brothers Publishing House. 381 pp.
- McArthur A.G. and Harasewych M.G.** (2003) Molecular systematics of the major lineages of the Gastropoda. In Lydeard C. and Lindberg D.R. (eds) *Molecular systematics and phylogeography of mollusks*. Washington, DC: Smithsonian Books, pp. 140–160.
- Mienis H.K.** (2002) Marine mollusken uit het oostelijk deel van de middellandse zee 9. Opnieuw een nieuwe Indo-pascifische soort: *Diodora funiculata*. *Spirula* 327, 73.
- Monterosato T.A.di** (1878) Enumerazione e sinonimia delle conchiglie mediterranee. *Giornale di Scienze Naturali ed Economiche di Palermo* 13, 61–115.
- Monterosato T.A.di** (1879) Note intorno alcune conchiglie della costa d'Africa. *Bullettino della Società Malacologia Italiana* 5, 213–233.
- Morhange C. and Pirazzoli P.A.** (2005) Mid-Holocene emergence of southern Tunisian coasts. *Marine Geology* 220, 205–213.
- Poppe G.T. and Goto Y.** (1991) *European seashells*, Volume 1. (*Polyplacophora, Caudofoveata, Solenogastres, Gastropoda*). Wiesbaden: Christa Hemmen.
- Puillandre N., Baylac M., Boisselier M.C., Cruaud C. and Samadi S.** (2009) An integrative approach of species delimitation in the genus *Benthomangelia* (Mollusca: Conoidea). *Biological Journal of the Linnean Society* 96, 696–708.
- Puillandre N., Lambert A., Brouillet S. and Achaz G.** (2012) ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology* 21, 1864–1877.
- Ronquist F. and Huelsenbeck J.P.** (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19, 1572–1574.
- Sabelli B., Giannuzzi-Savelli R. and Bedulli R.** (1990) *Catalogo annotato dei molluschi marini del Mediterraneo*, Volume 1. Bologna: Libreria Naturalistica Bolognese.
- Sabelli B., Giannuzzi-Savelli R. and Bedulli R.** (1992) *Catalogo annotato dei molluschi marini del Mediterraneo*, Volume 2. Bologna: Libreria Naturalistica Bolognese.
- Sabelli B. and Taviani M.** (1981) Réflexions sur les endémiques (mollusques marins) du Golfe de Gabès (Tunisie). In Rampal J. (ed.) *Journées d'études sur systématique évolutive et la biogéographie en Méditerranée*. Monaco: Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Méditerranée (CIESM), pp. 149–150.
- Sabelli B. and Taviani M.** (2013) The making of Mediterranean molluscan biodiversity. In Goffredo S., Baader H. and Dubinsky Z. (eds) *The Mediterranean Sea: its history and present challenges*. New York, NY: Springer, pp. 285–316.
- WoRMS** (2016) World register of marine organisms. <http://www.marine-species.org/>.
- and
- Zenetos A., Gofas S., Verlaque M., Cinar M.E., Garcia Raso J.E., Bianchi C.N., Morri C., Azzurro E., Bilecenoglu M., Frogia C., Siokou I., Violanti D., Sfriso A., San Martin G., Giangrande A., Katagan T., Ballesteros E., Ramos-Espla A., Rastrototaro F., Ocana O., Zingone A., Gambi M.C. and Streftaris N.** (2010) Alien species in the Mediterranean Sea by 2010. A contribution to the application of European Union's Marine Strategy Framework Directive (MSFD). Part I. Spatial distribution. *Mediterranean Marine Science* 11, 381–493.

Correspondence should be addressed to:

C. Aissaoui
 Institut de Systématique, Évolution, Biodiversité ISYEB –
 UMR 7205 – CNRS, MNHN, UPMC, EPHE, Muséum national
 d'Histoire naturelle, Sorbonne Universités, 55 rue Buffon,
 F-75005, Paris, France
 email: chrifaissaoui@yahoo.fr

3.2 Diversité cryptique dans le genre *Jujubinus* (Mollusca, Gastropoda, Trochidae): les complexes *exasperatus* et *striatus*.

La superfamille des Trochoidea Rafinesque, 1815 se compose de 20 familles (WoRMS 2016). La famille Trochidae comprend plus de 160 genres (WoRMS 2016) et elle est présente dans presque toutes les mers (Barco *et al.* 2013) généralement à faible profondeur (zone intertidale ou infralittorale). Les espèces sont souvent associées à des substrats durs rocheux dont les récifs coralliens et sont plus communément herbivores ou détritivores (Hebert 1993; Hickman & McLean 1990). Les Trochidae sont morphologiquement très variables, avec des tailles allant de 0,5 cm à 20 cm.

Les limites des espèces de Trochidae sont souvent difficiles à préciser (Kristen *et al.* 2005). La plupart des Vetigastropoda montrent une différenciation génétique à différentes échelles géographiques, notamment en raison de leur développement lécithotrophe pélagique, ce qui les différencie des groupes à développement planctotrophique comme les Caenogastropoda (Barco *et al.* 2013).

Au sein de cette famille, la sous-famille Cantharidinae Gray, 1857 est particulièrement diversifiée dans le Nord-Est de l'Atlantique. Elle comprend plus de 39 genres et au moins 520 espèces actuellement reconnues (WoRMS 2016). Ainsi que tous les Cantharidinae, le genre *Jujubinus* Monterosato, 1884 englobe des espèces d'eaux peu profondes. La plupart sont très communes dans la zone infralittorale à des profondeurs inférieures à - 100 m. Elles sont associées à des végétations d'algues et / ou angiospermes marines (Mariottini *et al.* 2013, Smriglio *et al.* 2015).

Depuis Monterosato, 1884 le groupe des *Jujubinus* en méditerranée a été révisé par plusieurs taxonomistes (par exemple : Nordsieck 1973; Ghisotti & Melone 1975; Curini-Galletti & Palazzi 1980; Curini-Galletti 1982; Gofas 1991; Cretella 1992, 1993; Rolán & Templado 2001; Bogi & Campani, 2005; Rolán & Swinnen, 2009; Avila *et al.* 2011; Spanu, 2011; Mariottini *et al.* 2014), cependant aucune approche moléculaire n'a été faite jusqu'à aujourd'hui. Trente espèces de *Jujubinus* sont acceptées dans WoRMS (2016), parmi elles 20 espèces sont reconnues en Méditerranée (CLEMAM 2016). Les espèces les plus communes se subdivisent généralement en deux groupes morphologiques proches: le complexe *Jujubinus exasperatus* Pennant, 1777 et le complexe *Jujubinus striatus* Linné, 1758. Ces deux complexes se rencontrent le long de l'Est Atlantique et dans toute la mer Méditerranée (WoRMS, 2016). Récemment, un troisième complexe a été décrit en Méditerranée (le complexe *Jujubinus curinii*). Il englobe 5 espèces, parmi elles, 4 sont endémiques de la Sicile

(*Jujubinus curinii* Bogi & Campani 2006; *Jujubinus catenatus* Ardovalini, 2006; *Jujubinus eleonora* Smriglio, Di Giulio & Mariottini, 2014; *Jujubinus trilloi* Smriglio, Di Giulio & Mariottini, 2014) et une autre est endémique de la mer d'Alboran (*Jujubinus alboranensis* Smriglio, Mariottini & Oliverio, 2015). Ces espèces se caractérisent par une sculpture particulière avec des cordons spiraux plats (Smriglio *et al.* 2015) différents des deux autres complexes.

3.2.1 Jeu de données et analyse phylogénétique

Les populations de *Jujubinus* ont été collectées dans plusieurs localités des deux bassins de la Méditerranée (Fig.8) afin de délimiter les espèces dans les complexes *Jujubinus striatus* et *Jujubinus exasperatus*, et d'évaluer la présence éventuelle de lignées cryptiques et de tester l'endémisme de certaines formes décrites dans le golfe de Gabès.

Ces populations incluent le matériel des localités types de deux taxons nominaux (*Jujubinus fraterculus* et *Jujubinus unidentatus*). Il est complété par des représentants d'espèces avec une taxonomie probablement stable et d'autres avec des identifications morphologiques douteuses.

Une approche de taxonomie intégrative, combinant des données moléculaires, morphologiques et géographiques a été appliquée. Dans une première étape, 28 spécimens de différentes localités de la Méditerranée (France, Italie; Espagne, mer Egée, le golfe de Gabès) ont été séquencés au MNHN. Les séquences obtenues ont été ensuite intégrées dans un autre jeu de données qui contient plus de 30 spécimens séquencés d'espèces considérées comme endémiques de Sicile (complexe *Jujubinus curinii* et autres).

L'objectif de cette combinaison est de maximiser l'échantillonnage en terme de nombre d'individus et de localités. Les résultats seront l'objet d'un article en cours en d'élaboration avec Mariottini *et al.* Seule une partie des résultats est présentée (ceux provenant des séquençages effectués au MNHN).

L'identification morphologique de tous les spécimens a été réalisée dans un premier temps par Gianni Spada. Un deuxième retour à la morphologie de l'ensemble des coquilles a été fait par Marco Oliverio après les analyses moléculaires. Les ADN totaux sont extraits, amplifiés et séquencés selon les protocoles indiqués dans les groupes précédents et un fragment des gènes mitochondrial COI (650 pb) et nucléaire 28S (730 pb) sont amplifiés à partir des amorces universelles LCOI1490 et HCO2198 (Folmer *et al.* 1994), C1 et D2 (Jovelín & Justine 2001).

Les séquences de COI des mêmes spécimens (658 pb) ont été obtenues. La délimitation des espèces est effectuée par la méthode ABGD (Puillandre *et al.* 2012) en utilisant les paramètres par défauts. La monophylie des groupes génétiques définis par l'ABGD est testée par une analyse basée sur la méthode d'inférence Bayésienne réalisée à l'aide du logiciel MrBayes 3.2 (Ronquist & Huelsenbeck 2003). Les paramètres choisis pour cette analyse sont de 3 millions de générations et la fréquence d'échantillonnage est de 1 sur 100. La convergence des analyses est contrôlée par le logiciel Tracer 1.4.1 (Rambaut & Drummond 2007) et une température de 0.02. L'arbre consensus majoritaire et la distribution des probabilités postérieures (PP) des arbres sont calculés, après élimination des 25000000 premières générations. Le modèle d'évolution nucléotidique a été utilisé (GTR+G+I). Les groupes génétiques soutenus par le COI et 28S seront rattachés provisoirement à des noms d'espèces disponibles ou nouveaux. Enfin, les résultats génétiques sont confrontés à une approche de taxonomie classique, indépendante, pour l'ensemble des individus.

3.2.2 Résultats

- Hypothèse de délimitation d'espèces

L'examen morphologique réalisé sur tous les individus récoltés sur l'ensemble des aires échantillonnées a permis de mettre en évidence 5 morpho-groupes principaux (notés de m1 à m5, Fig.1). Ces morpho-groupes sont repartis en deux ensembles d'espèces chacun regroupant de manière homogène des individus à coquilles proches. Dans le complexe de *J. striatus* on a distingué 3 morpho-groupes noté de m1 à m3 reconnus comme: *J. karpathoensis*, *J. striatus* et *J. fraterculus*. Dans le complexe de *J. exasperatus* on a distingué 2 morpho-groupes notés m4 et m5 et reconnus comme: *J. exasperatus* et *J. unidentatus*.

Le gène COI de ces morpho-groupes a été analysé (Fig. 9A). Six groupes sont bien délimités par la méthode de délimitation d'espèce (ABGD). Elles sont bien soutenues et réciproquement monophylétiques dans l'analyse bayésienne (PP >95). Le clade 1 contient un seul spécimen récolté dans le Nord de la mer Egée (Néo Páramos, Grèce) et morphologiquement attribué à m1. Ce clade (PP= 0.98) constitue un groupe frère pour tous les autres groupes apparus dans l'arbre.

Les clades 2 et 3 contiennent des spécimens récoltés en Espagne (Cabos de Palos) et en Italie (Ile d'Elbe) attribués morphologiquement à m2. Ces deux clades sont bien soutenus (PP= 1) et sont séparés par une distance génétique supérieure à 4%.

Le clade 4 (PP= 1) regroupe 9 séquences d'un morpho groupe (m3) classiquement décrit comme endémique du golfe de Gabès et il est génétiquement divergent des autres clades.

Le clade 5 (PP=1) contient des spécimens récoltés dans la mer Egée (Halkidiki, Grèce), Fettovaia (Ile d'Elbe, Italie) et en France (La Ciotat « Figuerolle »), et morphologiquement attribués à m4.

Enfin le clade 6 (PP= 1) contient des spécimens appartenant à deux morpho-groupes. Un morpho-groupe attribué aussi à m4, récoltés en France, mer Egée, Italie et en Espagne et un morpho groupe (noté ici m5) attribué classiquement à une espèce endémique au golfe de Gabès. Les spécimens d'Italie et d'Espagne appartenant à m4 dans ce clade sont récoltés en sympatrie avec les spécimens du clade 5 alors que les spécimens attribués à m5 sont récoltés en sympatrie avec les spécimens du clade 4. La distance génétique entre C5 et C6 est supérieure à 3%.

Parallèlement, un total de 11 séquences d'un fragment de gène nucléaire ribosomal 28S (700 pb) a été obtenu (Fig. 9B). Les résultats apportés par l'ajout de ce gène à notre jeu de données initial sont cohérents avec les résultats obtenus à partir du gène COI. Les individus séquencés pour le gène 28S correspondent à cinq des 6 clades précédemment définis (C1-C6) confirmant les groupes soutenus au niveau mitochondrial sauf le clade 1 (un seul spécimen dont le 28S n'a pas réussi). Ces groupes constituent des clades monophylétiques bien supporté (PP>98) et apparaissent génétiquement bien différenciés ce qui suggère l'hypothèse qu'ils s'agissent d'espèces distinctes.

- Congruence entre l'approche moléculaire et morphologique

Une congruence totale a été observée entre les données obtenues par le gène de COI et celle de 28s. Ces données moléculaires sont partiellement congruentes avec les données morphologiques et pour cette raison une seconde analyse morphologique a été réalisée. Cette analyse montre que les spécimens regroupés dans le clade 5 sont morphologiquement différents de ceux regroupés dans le clade 6. Ils se différencient par la sculpture, le système de coloration très particulier ainsi que par une petite taille. Les deux morpho-groupes regroupés dans le clade 6 préalablement nommés m4 et m5 sont morphologiquement très semblables ce qui renforce l'hypothèse de l'existence d'une seule et même entité taxonomique. Le morpho groupe 4 est lui divisé en 2 clades génétiquement séparés au niveau des deux gènes (C2 et C3). Le réexamen des coquilles montre que les spécimens regroupés en C3 sont

morphologiquement distincts de C2 et se caractérisent par des stries fines et une forme plus allongée.

3.2.3 Discussion et conclusion

Notre approche intégrative basée sur 2 gènes (COI et 28S) consolidée par des données morphologiques a donc permis de différencier 6 MOTUs génétiquement distinctes. Elles représentent des espèces cryptiques et/ou morphologiquement très proches au sein des deux complexes *J. exasperatus* et *J. striatus*. En combinant les données moléculaires et morphologiques les noms d'espèces suivantes ont été attribués à différentes lignées.

C1 = *J. karpathensis*, une espèce endémique de la mer Egée se distingue par des cordons spiraux rouges

C2 = *J. striatus* espèce commune dans toute la Méditerranée.

C3 = lignée non reconnue par les taxonomistes est une espèce génétiquement proche de *J. striatus* mais distincte génétiquement (notée *J. cf. striatus*).

C4 = *J. fraterculus* apparaît bien une espèce endémique du golfe de Gabès. Notre échantillonnage contient des spécimens de la localité type de *J. fraterculus*.

C5 = *J. corallinus*, une très jolie espèce décrite dans la littérature sans aucune précision de localité type « Méditerranée et Adriatique » (Monterosato 1884) était considérée comme synonyme de *J. exasperatus*.

C6 = se distingue par des cordons spiraux fortement granuleux et plus larges que chez les autres espèces, un profil plus étroit est attribué à *J. exasperatus*. Le morphotype *J. unidentatus* décrit comme endémique du golfe de Gabès et génétiquement inséparable ce qui rejette l'hypothèse qu'il s'agit d'une espèce valide.

Sur la base d'un échantillonnage limité (28 spécimens) cette étude révèle donc un nombre d'espèces surprenantes (5 ou 6 espèces). Elle confirme aussi la présence d'endémiques dans le golfe de Gabès (*J. fraterculus*) et en mer Egée (*J. karpathensis*) mais rejette l'endémicité de *J. unidentatus* (golfe de Gabès). Cependant un clade (C3) n'a pu être identifié et représente potentiellement une espèce nouvelle. Il convient de noter que l'échantillonnage est évidemment trop restreint pour conclure sur le nombre d'espèces réelles présentes en Méditerranée mais encourage à poursuivre les recherches sur ce groupe. De la même manière, on ne peut aborder que très préliminairement la biogéographie des différentes espèces. L'augmentation de nos connaissances sur les espèces à large distribution (*J. striatus*, *J. exasperatus* et *J. corallinus*) ou bien les espèces endémiques (*J. karpathensis* en Grèce et *J. fraterculus*) est primordiale pour la compréhension du groupe. C'est pourquoi une

étude phylogénétique multigènes recouvrant les deux bassins de la Méditerranée et l'Atlantique est en préparation (en collaboration avec Paolo Mariottini et Marco Oliverio) et devrait compléter ces résultats.

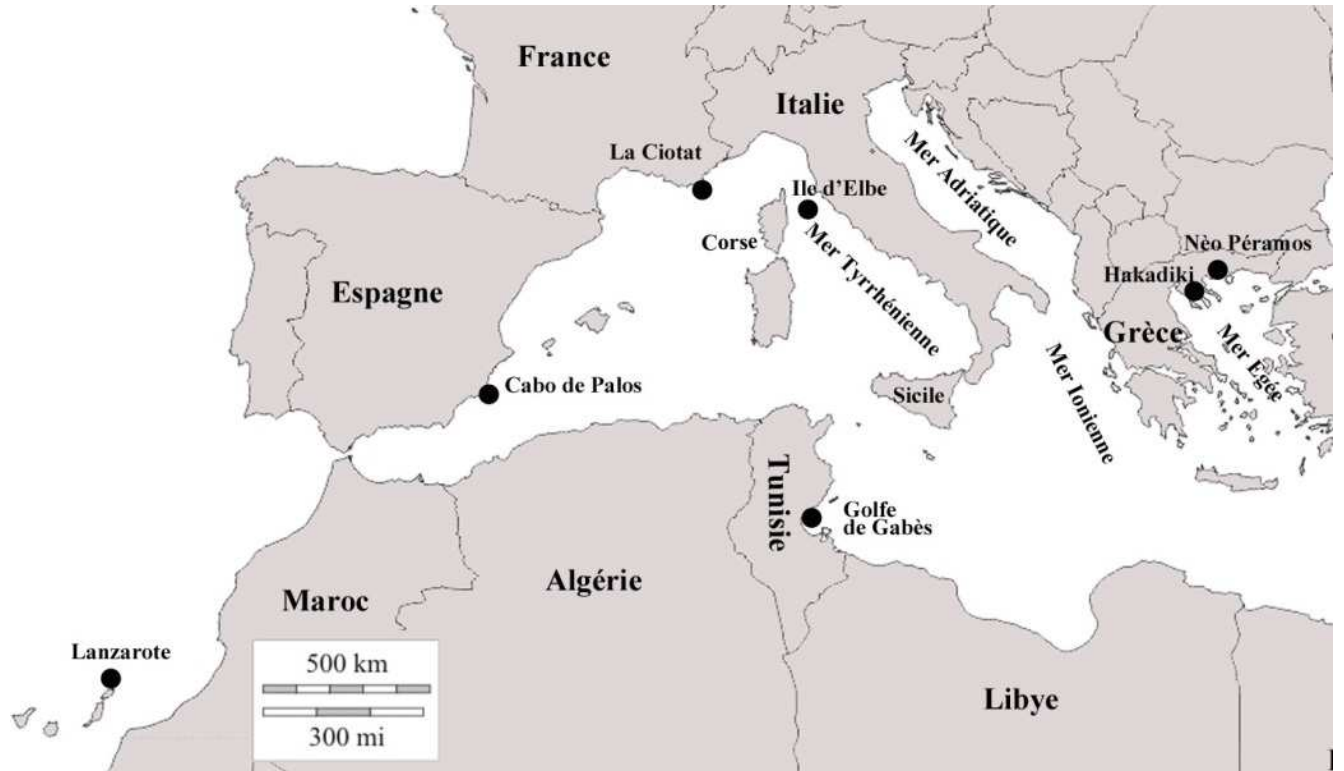


Figure 8. Localisation du matériel séquencé pour le genre *Jujubinus*.

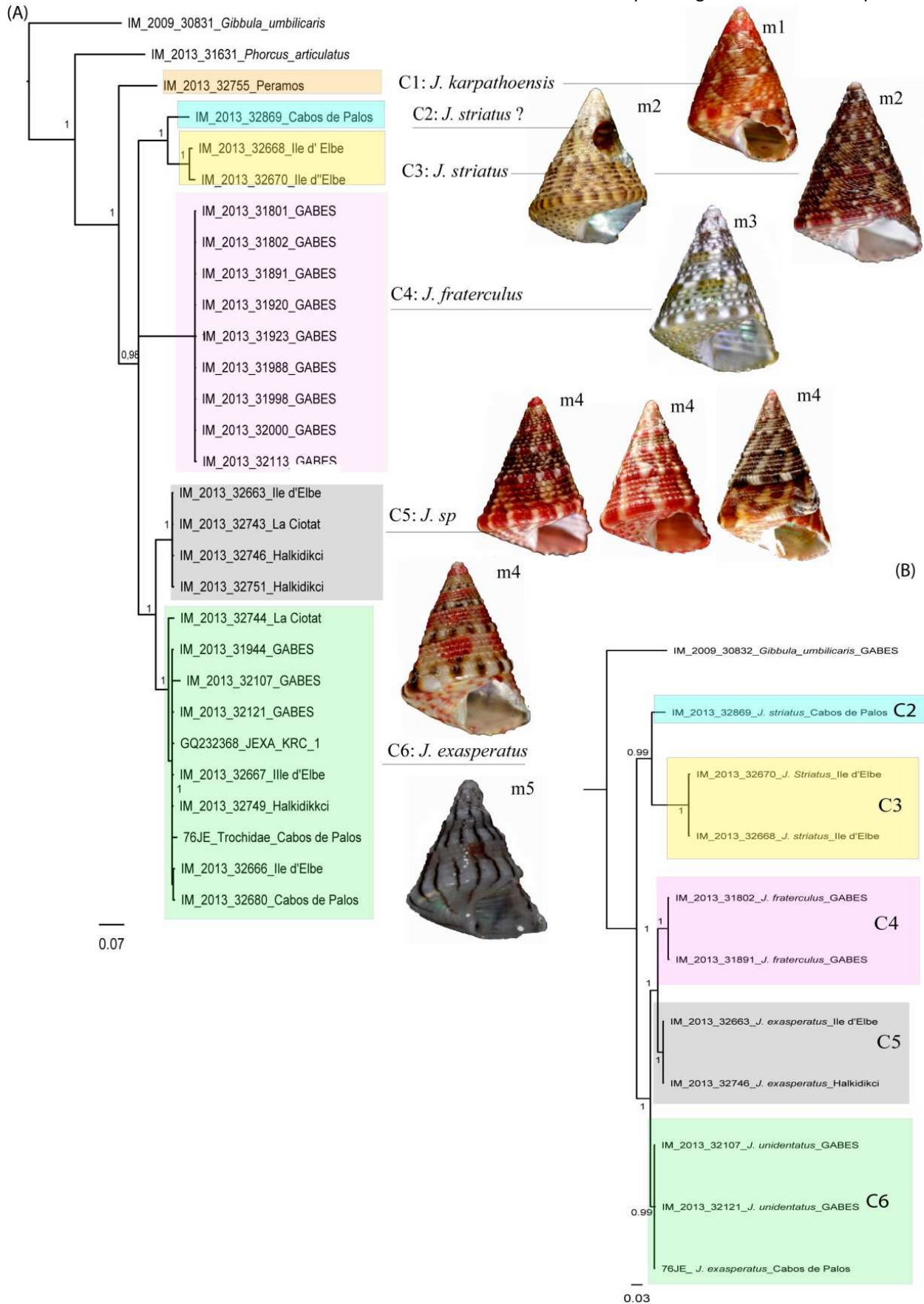


Figure 9. Phylogénie moléculaire chez le genre *Jujubinus* (Vetigastropoda; Trochidae) produite par des analyses indépendantes (A: COI, B: 28S) d'inférence bayésienne. Les PP < 50% ne sont pas représentées. Six lignées (C1-C6) sont délimitées et bien supportées par les analyses phylogénétiques.

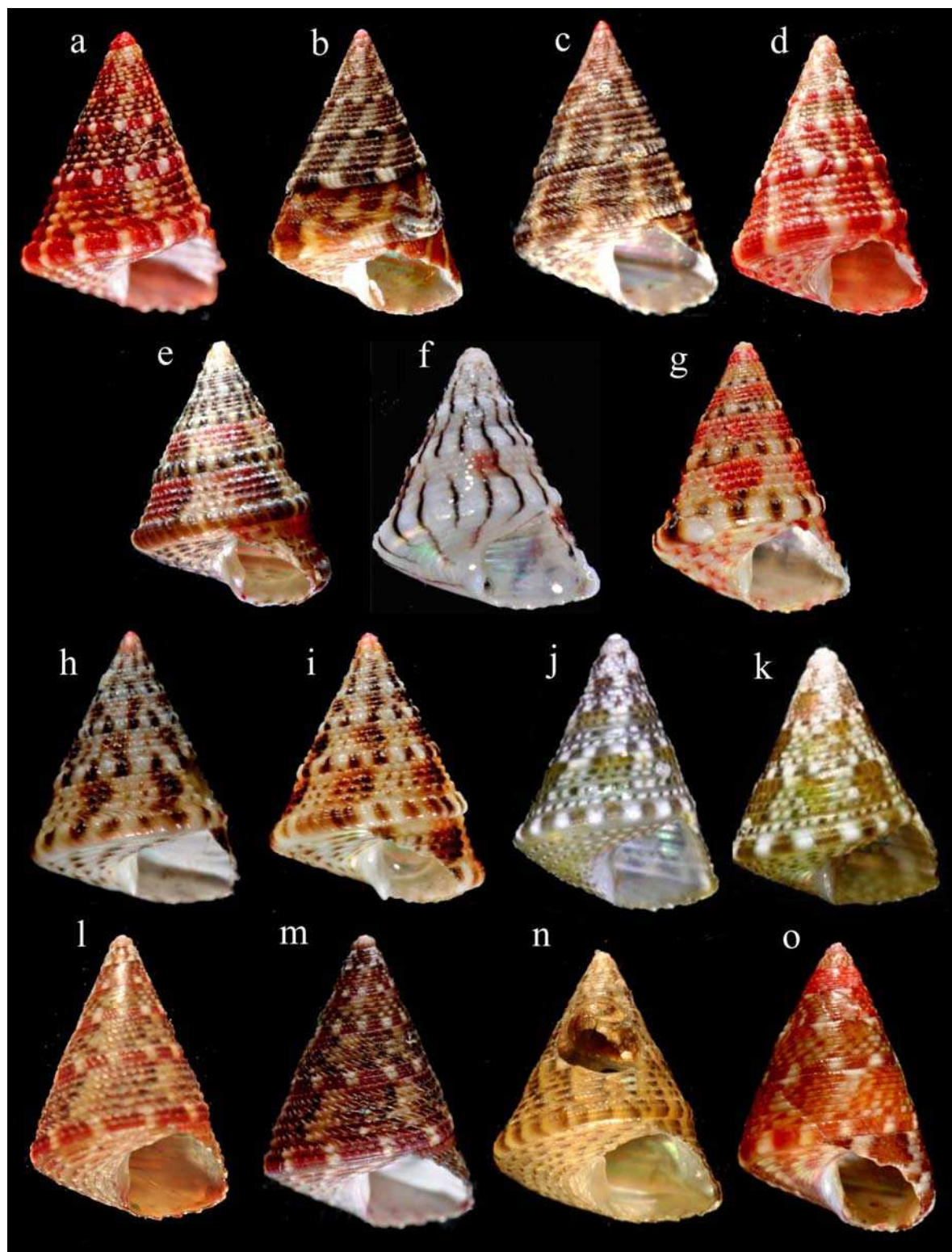


Figure 10. Diversité cryptique au sein du genre *Jujubinus*. a: *J. corallinus*, Fettouvaia, Ile d'Elbe, IM-2013-32663; b et c: *J. corallinus*, mer Egée, Halkidiki, respectivement IM-2013-32746 et IM-2013-32751; d: *J. corallinus*, La Ciotat, Calanque de Figuerolles, IM-2013-32743; e: *J. exasperatus*, Cabos de Palos, IM-2013-32680; f: *J. exasperatus*, Djerba; IM-2013-32107; g: *J. exasperatus*, La Ciotat, Calanque de Figuerolles, IM-2013-32744; h, i: *J. exasperatus*, Fettouvaia, Ile d'Elbe, respectivement IM-2013-32667 et IM-2013-32666; j et k: *J. fraterculus*, Djerba, respectivement, IM-2013-31802 et IM-2013-31891; l et m: *J. striatus*, Fettouvaia, Ile d'Elbe, respectivement IM-2013-32670 et IM-2013-32668; n: *J. cf. striatus*, Cabos de Palos; IM-2013-32869; o: *J. karpathoensis*, mer Egée, Néo Peramos, IM-2013-32755.

CHAPITRE IV

DIVERSITE CRYPTIQUE EN MEDITERRANNEE CHEZ LES BUCCINIDAE DU GENRE *APLUS*

«Autrement dit, le droit à la culture, c'est purement et simplement la volonté d'y accéder». André Malraux

4.1 Les espèces assignées traditionnellement au genre *Pollia* en Méditerranée

Au sein de l'ordre des Neogastropoda, la super famille des Buccinoidea, contient plus de 3.015 espèces valides (WoRMS 2016) regroupées dans 6 familles (Buccinidae, Columbellidae, Colubrariidae, Fasciolaridae, Nassariidae, Melongenidae.). C'est la plus grande super-famille après les Conoidea. Seuls quelques groupes ont été étudiés d'un point de vue génétique (Hayashi 2005, Oliverio & Modica 2010). La famille des Buccinidae Rafinesque 1815, est l'une des plus diversifiée de cet ensemble. Elle est connue comme un groupe prédateur de gastéropodes marins, très répandue dans les eaux tropicales et tempérées et certaines espèces présentent une variabilité intraspécifique remarquable. Elle a par ailleurs une importance commerciale. La systématique des Buccinidae est loin d'être résolue et il n'existe pas d'hypothèse phylogénétique robuste (Hayashi 2005). En conséquence, les différentes subdivisions des Buccinidae telles que notées par Bouchet & Rocroi en 2005 apparaissent peu solides. C'est sans doute la raison pour laquelle WoRMS (2015) ignore le classement sous-familial pour cette famille.

Les espèces appartenant au genre *Pollia* Gray 1834, sont souvent placées dans les genres *Cantharus* Röding 1798, ou *Tritonidea* Swainson 1840, qui ont une distribution Indo-Ouest Pacifique (Vermeij 2006, Garcia 2008, Vermeij & Bouchet 1998). Actuellement, cinq espèces de l'Atlantique et de la Méditerranée sont assignées à ce genre (Settepassi 1971, Giannuzzi-Savelli *et al* 2003, Vermeij 2006, Brunetti & Della Bella 2014): *Pollia assimilis* Reeve, 1846; *P. campisii* Ardochini, 2015; *P. dorbignyi* Payraudeau, 1826, *P. scabra* Locard, 1892 ; *P. scacchiana* Philippi, 1844. Ces espèces sont morphologiquement proches et appartiennent à ce qu'il convient d'appeler le complexe *Buccinum dorbignyi* Payraudeau 1826 dont la systématique de ces espèces est actuellement discutée. Par ailleurs, Vermeij (2006) et García (2008) ont proposé d'utiliser le nom générique *Anna* Risso, 1826 (espèce type: *Anna massena* Risso, 1826) pour ces espèces. Cependant, *Anna massena* (une espèce de Pliocène du SE de la France) est probablement une espèce de Raphitomidae (Conoidea; Gofas comm. Pers.) et l'utilisation de ce genre pour ces espèces a été rejetée par Brunetti & Della Bella (2014). Ces auteurs ont suggéré que *Buccinum dorbignyi* et les espèces apparentées appartiennent à un groupe bien représenté dans le Plio-Pléistocène de l'Europe, distinct de *Pollia*, et pour lequel le nom du genre *Aplus* de Gregorio, 1885 est disponible. Ce groupe est également représenté dans l'Ouest de l'Atlantique par au moins une espèce, *Pollia florida* Garcia, 2008.

Les espèces du genre *Aplus* en Méditerranée montrent une variation morphologique remarquable. Leurs protoconques paucispirales indiquent un développement larvaire

lécithotrophe (en grande partie intracapsulaire) et donc une capacité de dispersion très limitée comme chez la plupart des Buccinidae (Amio 1963, Golikov 1980, Webber 1977). Historiquement, la taxonomie de ce genre est basée sur la morphologie de la coquille. Cependant cette approche taxonomique traditionnelle a montré ses limites, et les études les plus récentes sur les mollusques marins sont basées sur une approche intégrative combinant des données moléculaires et traditionnelles (Puillandre *et al.* 2009, Claremont *et al.* 2011, Zou *et al.* 2012).

4.2 Approche intégrative

Afin de délimiter les espèces dans le genre *Aplus* vivant actuellement en Méditerranée et d'évaluer la présence éventuelle de lignées cryptiques, différentes populations de *Aplus* ont été collectées dans plusieurs localités des deux bassins de la Méditerranée incluant le matériel des localités types de deux taxons nominaux : *Buccinum dorbignyi* et *Anna scabra*. Une approche de taxonomie intégrative, combinant des données moléculaires, morphologiques et géographiques a été appliquée et 66 spécimens ont été séquencés.

Cette approche intégrative nous permet de distinguer sept lignées génétiques distinctes dont les espèces classiques et bien délimitées *Aplus dorbignyi* et *Aplus scacchianus* (Philippi, 1844). Deux lignées correspondent à *Aplus gaillardoti* (Puton, 1856) et *Aplus nodulosus* (Bivona Ant, 1832) récoltées dans la mer Egée et en Sicile. Ces deux espèces sont classiquement traitées comme deux synonymes de *Aplus dorbignyi* (Payraudeau 1826). L'étude révèle aussi une autre espèce dans le détroit de Gibraltar, très divergente par rapport aux autres, nommée très provisoirement *Aplus campisii*. Deux autres populations bien différenciées sont attribuées à *Aplus dorbignyi* et *Aplus scaber* (Locard, 1892) car elles proviennent des localités types (Corse et Saint Raphael en France).

Enfin, des spécimens récoltés au Nord de la Tunisie génétiquement et morphologiquement distinctes des espèces précédentes sont attribuées à *Aplus assimilis* (Reeve, 1846) une espèce ouest-africaine. Il s'agit donc de la reconnaissance d'une nouvelle espèce invasive.

Cette étude montre donc que le groupe de *Buccinum dorbignyi* (Payraudeau, 1826) comprend au moins sept espèces; cette diversité cryptique est comparable à celle observée par Calvo *et al.* (2009) en Méditerranée dans le genre *Dendropoma*.

Ces résultats ont été acceptés dans le journal *Scientia Marina* sous le titre «**Cryptic diversity in Mediterranean gastropods of the genus *Aplus* (Neogastropoda, Buccinidae)**» (Article 2).

Article 2: CRYPTIC DIVERSITY IN MEDITERRANEAN GASTROPODS OF THE GENUS *APLUS* (NEOGASTROPODA, BUCCINIDAE)

CHRIFA AISSAOUI^{1,4}, NICOLAS PULLANDRE², PHILIPPE BOUCHET¹, GIULIA FASSIO³, MARIA VITTORIA MODICA³, MARCO OLIVERIO³

¹Institut de Systématique, Évolution, Biodiversité ISYEB - UMR 7205 – CNRS, MNHN, UPMC, EPHE, Muséum national d'Histoire naturelle, Sorbonne Universités, 55 rue Buffon, F-75231, Paris, France

²Institut de Systématique, Évolution, Biodiversité ISYEB - UMR 7205 – CNRS, MNHN, UPMC, EPHE, Muséum national d'Histoire naturelle, Sorbonne Universités, 43 rue Cuvier, F-75231, Paris, France

³ Dipartimento di Biologia e Biotechnologie “Charles Darwin”, ‘Sapienza’ Università di Roma, Viale dell’Università 32, I-00185 Roma, Italy

⁴ Université de Carthage, Faculté des Sciences de Bizerte. Laboratoire de Biosurveillance de l'Environnement (Unité. Hydrobiologie littorale et limnique), 7021 Jarzouna. Tunisie

SUMMARY: North-eastern Atlantic and Mediterranean gastropods previously ascribed to the buccinid genus *Polia* Gray, 1837 are more correctly classified in the genus *Aplus*, De Gregorio, 1885. Using an integrative taxonomy approach combining molecular, morphological and geographic data, we revisit the limits of the species extant in the area, and propose a molecular phylogenetic hypothesis based on 66 specimens from various localities in the Mediterranean Sea, including type localities of some nominal taxa. We used a preliminary morphological inspection, followed by a DNA-barcoding approach to propose species hypotheses, subsequently consolidated using additional data (phylogenetic, geographic and refined morphological data). Seven species hypotheses were eventually retained, versus three classical morphologically recognized species. Among these, three correspond to *Aplus dorbignyi* (Payreaudeau, 1826) with its hitherto unrecognized geographical cognates *A. gaillardoti* (Puton, 1856) [eastern Mediterranean] and *Aplus nodulosus* (Bivona Ant., 1832) [Sicily]; two closely related, yet remarkably divergent, lineages are treated as a single species under *Aplus scaber* (Locard, 1892); the classically admitted *Aplus scacchianus* (Philippi, 1844) is confirmed by molecular evidence; Mediterranean populations attributable to *Aplus assimilis* (Reeve, 1846) may represent either cryptic native populations or an ongoing invasion of the Mediterranean by what was hitherto considered to be a West African species; finally, specimens from the Strait of Gibraltar are conservatively compared to *Aplus campisii* (Ardovini, 2014), recently described from Sicily, and may either represent its western cline or a related distinct species.

Key Words: Mollusca, Gastropoda, DNA-Barcoding, Taxonomy

Corresponding author: marco.oliverio@uniroma1.it, Fax +39.064958269.

INTRODUCTION

The Buccinidae Rafinesque, 1815 are a diverse family of medium- to large scavenging gastropods living from the shore to the deep sea, on soft or hard bottoms, from the tropics to the polar regions. Currently some 100 genera and 1,140 species are recognized worldwide with, with suprageneric systematics still not defined (Hayashi 2005). Traditionally, small buccinids with one or more internal denticles on the outer lip are allocated to genus-level taxa such as *Pollia* Gray, 1834, *Cantharus* Röding, 1798, or *Tritonidea* Swainson, 1840 that have mainly Indo-West Pacific distributions (Vermeij 2006, Garcia 2008, Vermeij and Bouchet 1998). Five eastern Atlantic and Mediterranean species are currently included in the genus *Pollia* (Settepassi 1971, Giannuzzi-Savelli et al. 2003, Vermeij 2006, Brunetti and Della Bella, 2014): the classically recognized *P. dorbignyi* (Payraudeau, 1826), *P. scacchiana* (Philippi, 1844) and *P. scabra* Locard, 1892, and two "outliers", *Pollia assimilis* (Reeve, 1846), thought to be a West African species, and the just described *P. campisii* Ardovini, 2015 from Sicily. Gofas and LeRenard (2015) included also *Pollia viverratoides* (d'Orbigny, 1840), which is however placed (more correctly) in the genus *Gemophos* in WoRMS.

Vermeij (2006) and García (2008) proposed to use the genus name *Anna* Risso, 1826 (type species: *Anna massena* Risso, 1826, by monotypy) for these species. However, *Annamassena* (a Pliocene species from SE France) is probably a species of Raphitomidae (Conoidea; Brunetti and Della Bella 2014: 12, S. Gofas pers. com.) and the use of the name *Anna* for these buccinids was rejected by Brunetti and Della Bella (2014) who instead convincingly suggested that *Buccinum dorbignyi* and related species belong to a lineage well represented in the Plio-Pleistocene of Europe, distinct from *Pollia*, and for which the genus name *Aplus* de Gregorio, 1885 is available. This lineage is also represented in the western Atlantic by at least one species, *Aplus florida* (Garcia, 2008).

Mediterranean *Aplus* show a remarkable morphological variation that is congruent with their mode of development. Their paucispiral protoconchs indicate a lecithotrophic larval development (probably entirely or mostly intracapsular), thus with a very limited dispersal ability, as is common in many buccinids (Amio 1963, Golikov 1980, Webber 1977). Historically, shelled gastropods taxonomy has been almost entirely based on shell characters, which are still commonly used even though morphological variation caused by adaptation to environmental pressures has been documented (Vermeij 2006). An exclusively traditional morphological taxonomy has shown its limits, and the most recent studies on marine molluscs have integrated molecular and traditional approaches to resolve taxonomic questions (e.g.: Puillandre et al. 2009, Claremont et al. 2011, Zou et al. 2012).

The objectives of the present study were to apply an integrative taxonomy approach, combining molecular, morphological and geographical distribution data, based on 66 sequenced specimens from the Mediterranean Sea (including topotype material of several nominal taxa) in order to define limits of *Aplus* species and to evaluate the presence of cryptic lineages.

MATERIALS AND METHODS

Samples and morphological primary identifications

Samples were collected at different Mediterranean localities (Fig. 2) and were fixed and preserved in absolute ethanol for molecular analysis. The soft parts were extracted from the shell; the shell was photographed and retained as a voucher (MNHN: Muséum national d'Histoire naturelle, Paris; BAU: Department of Biology and Biotechnologies, "Charles Darwin", 'La Sapienza' University, Rome). The collecting locality data, voucher numbers and GenBank accession numbers for each specimen are reported in Table 1. The material included in this paper was morphologically identified by Gianni Spada and Marco Oliverio.

Extraction of the radulae

Radulae were dissected from selected specimens, cleaned with diluted bleach, rinsed in distilled water, mounted on stubs, air dried, coated with gold-palladium and examined with a Scanning Electron Microscope. The radulae of *Aplus dorbignyi* and *A. assimilis* were examined and found to be nearly identical; they are described in the systematic part, under the genus *Aplus*.

Sequencing and amplification

DNA was extracted from a piece of muscle tissue using the DNeasy 96 Tissue kit (Qiagen). A fragment of Cytochrome Oxidase I (COI) mitochondrial gene was amplified using universal primers LCO1490 (5' GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') and HCO2198 (5'TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') (Folmer et al. 1994). All PCR reactions were performed in 25 µl, containing 3 ng of DNA, 1X reaction buffer, 2.5 mM MgCl₂, 0.26 mM dNTP, 0.3 µM of each primer, 5% DMSO and 1.5 units of Q-Bio Taq, QBiogene. Thermocycles consisted of an initial denaturation step at 94°C for 4', followed by 40 cycles of denaturation at 94°C for 30'', annealing at 48°C for 40'' and extension at 72°C for 1'. The final extension was at 72°C for 5'. PCR products were purified and sequenced by the Eurofins sequencing facility. Both directions were sequenced to confirm accuracy of each sequence.

Species delimitation and phylogenetic analyses

Specimens suitable to DNA extraction were identified based on morphological features and according to the current taxonomy. COI sequences from the same specimens were then obtained, cleaned using Codon Code Aligner version 4.0.4, and automatically aligned using ClustalW implemented in BioEdit version 7.0.5.3 (Larkin et al. 2007). The accuracy of automatic alignments was confirmed by eye. To delimit species the online version of the Automatic Barcode Gap Discovery method (Puillandre et al. 2012; available at <http://www.abi.snv.jussieu.fr/public/abgd/>) was used, with default parameters. It automatically detects, when present, a gap in the pairwise distribution of the genetic distances calculated between each pair of specimens. This gap, referred to as the Barcode gap, is supposed to correspond to a threshold between intra and interspecific distances and is used to propose species hypotheses in the form of Molecular Operative Taxonomic Units (MOTU).

The sixty-six new COI sequences, with the sequence retrieved from Genbank of *Gemmula* cf. *cosmoi* (Gastropoda, Conoidea, Turridae) (EU821220.1; voucher, MNHN-IM-2007-41424), *Cancellopolia* sp. (Gastropoda, Buccinoidea, Buccinidae) (EU015666.1; voucher MNHN-IM-2009-17854), and *Pisania striata* (IM-2009-30664, Gastropoda, Buccinoidea, Buccinidae) as outgroups, yielded a 658 bp alignment (Table 1).

A Bayesian phylogenetic analysis was performed, with six Markov chains (5×10^6 generations each with a sampling frequency of one tree each hundred generations) in two parallel runs using Mr. Bayes version 3.1.2 (Ronquist and Huelsenbeck 2003). The GTR+I+G substitution model was used, as recommended by MrModeltest v.2.2 using the Akaike Information Criterion (AIC) (Nylander 2004). The chain temperature was set at 0.02. The convergence of each analysis was evaluated using Tracer 1.4.1 (Rambaut and Drummond 2007). A consensus tree was then calculated after omitting the first 25% trees as burn-in. The phylogenetic tree was used to test if the species hypotheses proposed by ABGD corresponded to monophyletic groups or not.

RESULTS

In a first step, the shells of sixty six specimens were grouped into four morphospecies (M1-M4) based on similarity of shell characters and according to the current taxonomy of the group. The specimens were thus assumed to represent the three currently recognized species (Fig. 2): *A. scacchianus* (Philippi, 1844) - M1; *Aplus dorbignyi* (Payraudeau, 1826) - M2; *A. scaber* (Locard, 1892) - M3; *A. assimilis* (Reeve, 1846) - M4.

In a second step, COI sequences from the same specimens were analyzed with ABGD. In the vicinity of the barcode gap found in the distribution of the pairwise genetic distances, ABGD provided consistent partitions of species hypotheses, regardless of the prior divergence threshold used. The more inclusive partitioning defined 7 species hypotheses (MOTU 1-7) and the less inclusive partitioning 13 (MOTU 1.1-7.2) (Fig. 1). In most cases, the additional group in the less inclusive partitioning corresponded to a single specimen with a slightly divergent sequence (a few nucleotides) from the most closely related ABGD group. In only one case ABGD split a group of the more inclusive partition in two multispecimen groups in the less inclusive partition: MOTU 1.2 and 1.3, deriving along with MOTU 1.1 from the more inclusive MOTU 1, and all together corresponding to M1 *Aplus scacchianus* (Fig. 1).

Each species hypothesis defined by ABGD and containing more than one specimen corresponded to a highly supported ($PP > 0.96$) clade in the Bayesian tree, except the clade that includes the specimens identified as *A. assimilis* ($PP = 0.90$).

Geographical data of the assayed specimens were then used to evaluate the geographical congruence of the species hypotheses. Sympatry was detected for specimens of MOTU 4 and MOTU 6, and for specimens of MOTU 1 and MOTU 2.

Each of the seven species hypotheses proposed in the more inclusive ABGD partition included morphologically similar specimens. Additionally, when a species hypothesis was split in two or three in the less inclusive ABGD partition, no morphological difference were detected among them. However, two morphs were recognized within MOTU 4 in specimens from either Tunisia (Figs 11, 12: less scabrous shells) or France (Figs 13, 14, broadly topotypical material), and morphological differences were identified between MOTU 2 and MOTU 5. Similarly, diagnostic features were identified for MOTU 3 from its sister group MOTU 4.

DISCUSSION

Species delimitation

We have employed an integrative taxonomy strategy for Mediterranean populations of the genus *Aplus*. A priori morphological identification of specimens was challenged by DNA data and then evaluated, and eventually consolidated by subsequent integration of geographic data and morphological features (protoconch and teleoconch morphology). Thus, in our delimitation approach, species are considered as hypotheses engaged in a process of validation as new characters are analyzed (De Queiroz 2007, Barberousse and Samadi 2010).

The relative congruence between the species hypotheses defined with ABGD and the morphologic and geographic data is a further support to the claim that ABGD can be used as a good proxy for species delimitation in gastropods when only molecular data available (Puillandre et al. 2012, Barco et al. 2013, Prockow et al. 2013). Seven species hypotheses were eventually retained, corresponding to lineages that are divergent and reciprocally monophyletic, satisfying two of the criteria of species delimitation derived from lineages species concept (Barberousse and Samadi 2010). The seven species hypotheses showed a geographical congruence that was of help to link some of them to available species names. MOTU 6 represented *Aplus dorbignyi* since it included topotypical (Payraudeau 1826) specimens from Corsica; MOTU 4 represented *Aplus scaber*, since it included topotypical (Locard 1892) specimens from Saint Raphael, France; MOTU 5 represented *Aplus nodulosus* (Bivona Ant., 1832) since it included topotypical specimens from Palermo. MOTU 2 was ascribed to *Buccinum gaillardoti* Puton, 1856, which was described from the eastern Mediterranean (Lebanon) although our material originated from the Aegean Sea (Greece). In all these cases, morphological features were not in contrast with the original descriptions. Finally, congruently with traditional taxonomy MOTU 1 and MOTU 7 were unequivocally ascribed to *Aplus scacchianus* (Philippi, 1844) and *Aplus assimilis* (Reeve, 1856), respectively. MOTU 3, represented by three specimens from the Strait of Gibraltar (Tarifa), was morphologically compared with *Aplus campisii* (Ardovini, 2015), described from Sicily without a final decision pending the molecular analysis of topotypical material of *A. campisii*.

Systematics

Class: Gastropoda, Cuvier, 1797

Subclass: Caenogastropoda Cox, 1960

Order: Neogastropoda, Thiele, 1929

Family: Buccinidae, Rafinesques, 1815

Subfamily: Pisaniinae Gray, 1815

Genus: *Aplus* De Gregorio, 1884

Type species *Murex plicatus* Brocchi, 1814 by subsequent designation of Vokes 1971: 83

Diagnosis: Shell of small size for the family (height 10-20 mm), ovate, slender, spire about half total height. Protoconch paucispiral, of 1-1.5 smooth mamillate whorl. Teleoconch with axial, orthocline, nodulose ribs, and spiral cords. Siphonal canal short. Aperture ovate; outer lip thickened, crenulated externally, the inner side with strong denticles, the apicalmost and the parietal delimiting a posterior "anal canal".

The radula of *Aplus* species is rather uniform throughout the genus: rachiglossate, central tooth almost as long as wide, cutting edge with five cusps, three close to each other and spaced in the central part, central cusp largest, the others increasingly smaller. Lateral tooth fang-like, with two cusps; outer margin rounded and broadened; inner cusp with a smooth, strongly curving outer flank and a convex inner broadside with two denticles.

Remarks: The type species of *Aplus* has been designated by Vokes as *Murex plicatus* forma *serzus* De Gregorio, 1885, based on Bellardi (1872: pl. 12 fig. 21). Brunetti and Della Bella (2014) ignored Vokes' designation and instead invalidly indicated *Murex (Aplus) nilus* De Gregorio, 1885 as type species. The two entities are unquestionably related and the concept of the genus *Aplus* remains exactly the same regardless of the type species, perfectly fitting its use for the recent species dealt with herein. Beside *Anna* (a *nomen dubium* based on a type species, *Anna massena*, that is quite probably a conoidean; see above), these species were previously assigned to *Polia* or *Cantharus*. The genus *Polia* (type species *Buccinumundus* Linnaeus, 1758; by monotypy) differs by its small labral tooth located along the edge of the outer lip, and the presence of denticles on the columellar plate (Vermeij and Bouchet 1998). The genus *Cantharus* (type species *Buccinum tranquebaricum* Gmelin, 1791; by subsequent designation), differs by the larger, less slender and more robust shell, with wider aperture and simple outer lip (Vermeij 2006).

***Aplus dorbignyi* (Payraudeau, 1826)**

Buccinum dorbignyi Payraudeau, 1826: 159, pl. 8, figs 4, 6.

Mitrella marminea Risso, 1826: 272, pl. 5, fig. 64

Type material: What remains of Payraudeau collection is in MNHN but it does not contain types of *Buccinum dorbignyi*, which must be considered lost. To stabilize the nomenclature of the group, we herein designate as neotype a sequenced specimen, (MNHN IM-2000-31672), from Tour d'Ancone, Calcatoggio, Corsica.

Type locality: Payraudeau originally cited *Buccinum dorbignyi* from the "golfe d'Ajaccio, de Valinco, de Ventilegne" on the south-west coast of Corsica. The neotype comes from the Gulf of Sagone, just north of Ajaccio.

Distribution: Mediterranean Sea: records from eastern Mediterranean to be checked genetically (may be misidentified *A. gaillardoti*, see below).

Material examined: 4 specimens from Calcatoggio, Corsica (BAU 1625-1, BAU 1625-2, BAU 1625-3[neotype], BAU 1610), and 13 specimens from Gulf of Gabès (MNHN IM-2013-31696, IM-2013-31697, IM-2013-31698, IM-2013-31717, IM-2013-31740, IM-2013-31931, IM-2013-31932, IM-2013-31841, IM-2013-31842, IM-2013-32077, IM-2013-32078, IM-2009-30840, IM-2013-30811).

Description (data of neotype in parentheses): Shell of medium size for the genus, height 15-20 mm (17.5), ovate, slender, last whorl 3/5 total height. Protoconch paucispiral, of 1.5 smooth mamillate whorls, height 500 µm width 650 µm. Teleoconch of 5-6 (5.5) convex whorls, base moderately constricted, suture impressed. Axial sculpture of orthocline, nodulose ribs, slightly sinuose anteriorly, broader than interspaces, 12-14 (12) on the first whorl, 11-14 (12) on the last whorl. Spiral sculpture of numerous cords and cordlets, thinner than axials, irregularly spaced, and of varying size, the abapical thinner than the adapical, 2 cords and various cordlets on the first whorls, 10-13 (12) on the last whorl. Siphonal canal short, notched, fasciole low rounded. Aperture ovate, columellar wall concave medially, twisted and with 2-3 (2) weak plications anteriorly, with a parietal denticle posteriorly; outer lip thickened, the inner side with 8-9 (8) strong denticles, the posteriormost stronger than the parietal, together delimiting a posterior canal. Colour yellow to orange, with dark brown to black axial interspaces, a white spiral band on medial part of the spire. Periostracum thin, brown, easily lost after death.

Remarks: *Aplus dorbignyi* is easily separated from *Aplus scacchianus* by its stronger sculpture, its non spotted colour pattern and its larger size. It is larger than *Aplusscaber*, its sculpture is not so pronounced, and the white band in the middle of the last whorl is usually missing in *Aplus scaber*. As noticed by Brunetti and Della Bella (2014) the fossils from the

Upper Pleistocene of Capo Milazzo (Sicily) figured by Ruggieri and Greco (1965: pl. 2, figs 3a, b) are the only fossils known for the species.

***Aplus nodulosus* (Bivona Ant., 1832)**

Pisania nodulosa Bivona Ant., 1832: 13; pl. 2 fig. 8

Type material: There is no original Bivona material known to us. To stabilize nomenclature, we herein designate as neotype a sequenced specimen, MNHN IM-2013-32877.

Type locality: Palermo, Sicily.

Distribution: Currently known only from Sicily.

Material examined: 3 specimens from Sicily, Palermo (MNHN IM-2013-32877, IM-2013-32878, IM-2013-32879)

Description (data of neotype in parentheses): Shell of medium size for the genus height 18-21 mm (21), ovate, slender spire 3/5 total height. Protoconch paucispiral, of 1.5 smooth mamillate whorls. Teleoconch of 5-6 (5.8) convex whorls, base moderately constricted, suture impressed. Axial sculpture of orthocline, nodulose ribs, slightly sinuose anteriorly, as broad as or slightly broader than interspaces, 9-11 (9) on the first whorl, 12-13 (13) on the last whorl. Spiral sculpture of numerous cords and cordlets, thinner than axials, irregularly spaced, and of varying size, the abapical thinner than the adapical, 2 cords and various corlets on the first whorls, 11-13 (12) on the last whorl. Siphonal canal short, notched, fasciole low rounded. Aperture ovate, columellar wall straight, barely twisted and with 3 weak plications anteriorly, with a parietal denticle posteriorly; outer lip thickened, the inner side with 7-8 (7) denticles, the posteriormost stronger than the parietal, together delimiting a posterior canal. Colour creamy orange, with dark brown to black axial interspaces, a white spiral band on medial part of the spire. Periostracum thin, brownish, easily lost after death.

Remarks: The name *Pisania nodulosa* has been sunken in the synonymy of *Pollia dorbignyi* since the second half of the XIX century. Bivona provided a good illustration that, combined with the type locality, leaves no doubt as to being applicable to our topotypical material. The name *Turbinella eburnea* O.G. Costa, 1830 is also cited in the synonymy of *Pollia dorbignyi*; however, the description is superficial, there is no illustration, and we treat it as a *nomen dubium*. *Aplus nodulosus* can be diagnosed from *A. dorbignyi* by its more pronounced sculpture, the more slender shell with the last whorl slightly exceeding half of total length.

***Aplus gaillardoti* (Puton, 1855) comb. nov.**

Buccinum gaillardoti Puton, 1855: 224-225

Type material: The whereabouts of Puton's original material are not known and the type of *Buccinum gaillardoti* is certainly lost. However, because we do not have molecular material from Lebanon, we refrain from designating a neotype.

Type locality: Saida, Lebanon.

Material examined: 2 specimens (BAU 1500, BAU 1575_3) from Analypsi, Aegean Sea; 10 specimens (BAU 1558_1, BAU 1558_4, BAU 1558_5, BAU 1558_2, BAU 1558_7, BAU 1509_1, BAU 1509_3, BAU 1509_2, BAU 1558_6, BAU 1558_2) from Astypalea, Aegean Sea; 4 specimens (MNHN IM-2013_32773, IM-2013-32774, IM-2013-32775, IM-2013-32778) from Paxos Island, Ionian Sea, Greece.

Distribution: Eastern Mediterranean, from Greek Ionian and Aegean Seas to Lebanon;.

Description: Shell of medium size for the genus, height 10-12 mm, ovate, slender, spire about 3/5 total height. Protoconch paucispiral, of 1.5 smooth mamillate whorls, height 500 µm width 650 µm. Teleoconch of 5-6 evenly convex whorls, base moderately constricted, suture impressed. Axial sculpture of orthocline, nodulose ribs, slightly sinuose anteriorly, as broad as interspaces, 13-14 on the first whorl, 13-14 on the last whorl. Spiral sculpture of numerous cords and fine cords, thinner than axials, irregularly spaced, and of varying size, the abapical thinner than the adapical, 3 cords and various corlets on the first whorls, 10-11 on the last whorl. Siphonal canal short, notched, fasciole low, rounded. Aperture ovate, columellar wall concave medially, weakly twisted and with 2-3 weak plications anteriorly, with a parietal denticle posteriorly; outer lip thickened, the inner side with 8 strong denticles, the posteriormost stronger than the parietal, together delimiting a posterior canal. Colour dark orange to black, with dark brown to black axial interspaces, and a white spiral band on medial part of the spire. Periostracum thin, dark brown to black, easily lost after death.

Remarks: *Aplus gaillardoti* is smaller than *A. nodulosus*, darker and the white spiral band appears already on the first teleoconch whorl, and not only on the last adult whorl, as in *A. nodulosus*. *Aplus gaillardoti* is also similar to *A. dorbignyi* but is smaller, the sculpture is more pronounced, and the colour pattern is darker.

***Aplus scaber* (Locard, 1892)**

Polia scabra Locard, 1892: 103.

Type material: 3 syntypes in MNHN: 1 from Marseille (IM-2000-27764) and 2 from Toulon (IM-2000-27765).

Type locality: Mediterranean coast of France.

Distribution: Probably broadly distributed in the Mediterranean but not known in detail because of confusion with the other species; known with certainty from the coasts of France and Spain (Gofas et al. 2011), southern Italy and the Gulf of Gabès (present study).

Material examined: the type material; 2 specimens from Djerba (Gulf of Gabès; MNHN IM-2013-31912, IM-2013-31913); 2 specimens from Saint Raphael (France; MNHN IM-2013-32885, IM-2013-3884).

Description: Shell of medium size for the genus, height 12-15 mm, ovate, slender, last whorl 3/5 of total height. Protoconch paucispiral, of 1.5 smooth mamillate whorls, height 800 µm, width 700 µm. Teleoconch of 5-6 convex whorls, base moderately constricted, suture impressed. Axial sculpture of orthocline, not elevated, nodulose ribs, broader than interspaces, 7-9 stronger on the first whorl, 11-13 weaker on the last whorl. Spiral sculpture of numerous primary cords and secondary fines cords, thinner than axials, irregularly spaced, 2-4 cords on the first whorls, 10-13 cords and 5-12 secondary fines cords on the last whorl. Siphonal canal short, notched. Aperture ovate, columellar wall concave medially, twisted and with 2-3 weak plications anteriorly, with a parietal denticle posteriorly; outer lip thickened, the inner side with 8-9 strong denticles, the posteriormost stronger than the parietal, together delimiting a posterior canal. Colour yellow-orange to light brown, with brown to dark brown nodules arranged in two spiral rows above the medial part, and a series of spiral rows below the medial part; medial area without dark nodules. Periostracum very thin, light brown, easily lost after death.

Remarks: *Aplus scaber* differs from *A. dorbignyi*, *A. gaillardoti* and *A. nodulosus* by its finer and more acute tubercles (making its sculpture more scabrous even if less pronounced), and the white band usually lacking. It is also smaller than *A. dorbignyi*. The specimens from Gabès lack the folds on the columella, and have a less scabrous sculpture than usual *A. scaber*, but probably represent merely atypical morphotypes as is known for many gastropod species in the Gulf of Gabès.

***Aplus campisii* (Ardovini, 2015) comb. nov.**

Polliacampisii Ardovini, 2015: 12-13, unnumbered figs.

Type material: holotype in the Malacological Museum of Cupra Marittima, 5 paratypes all from the type locality in the collection Ardovini (Roma).

Type locality: Sicily, Italy.

Material examined: 3 specimens from Tarifa (Strait of Gibraltar; MNHN IM-2009-5219, IM-2009-5217, IM-2009-5219).

Distribution: Currently known only from Sicily (Ardovini, 2015) and the Strait of Gibraltar (present study).

Description: Shell of medium size for the genus, height 15-18 mm, ovate, slender, spire about 3/5 total height. Protoconch paucispiral, of 1.5 smooth mamillate whorls, height 740 µm width 860 µm. Teleoconch of 5-6 evenly convex whorls, base moderately constricted, suture impressed. Axial sculpture of orthocone, nodulose ribs, slightly sinuose anteriorly, as broad as interspaces, 13-14 on the first whorl, 13-14 on the last whorl. Spiral sculpture of numerous cords and fine cords, thinner than axials, irregularly spaced, and of varying size, the abapical thinner than the adapical, 3 cords and various corlets on the first whorls, 6-9 on the last whorl. Siphonal canal short, notched, fasciole low rounded. Aperture ovate, columellar wall concave medially, weakly twisted and with 2-3 weak plications anteriorly, with a parietal denticle posteriorly; outer lip thickened, the inner side with 8 strong denticles, the posteriormost stronger than the parietal, together delimiting a posterior canal. Colour dark orange to black, with dark brown to black axial interspaces, a white spiral band on medial part of the spire. Periostracum thin, dark brown to black, easily lost after death.

Remarks: The sequenced material from the Strait of Gibraltar resembles the types and other Sicilian materials of *Aplus campisii* and we are unable to decide whether the subtle morphological differences (less scabrous sculpture, stouter shell and lighter colour) represent merely a geographic variation or are diagnostic of a distinct species. Pending the availability of topotypical specimens of *A. campisii* we conservatively refrain from describing a new species and use that name for the western Mediterranean material. *Aplus campisii* differs from *A. dorbignyi*, *A. gaillardoti* and *A. nodulosus* by its finer and more acute tubercles (making its sculpture more scabrous even if less pronounced) and by the almost completely monochrome shell. It differs from the closest *A. scaber* by its more neatly monochrome and lighter orange-yellow shell.

***Aplus assimilis* (Reeve, 1846) comb. nov.**

Buccinum assimile Reeve, 1846: *Buccinum* pl. 12, species 90

Type material: Not researched for the present study.

Type locality: no locality was given by Reeve.

Material examined: 11 sequenced specimens from Bizerte (MNHNIM-2013-32254, IM-2013-32225, IM-2013-32227, IM-2013-32228, IM-2013-32233, IM-2013-32274, IM-2013-32513, IM-2013-32561, IM-2013-32564, IM-2013-32565, IM-2013-32568).

Distribution: West African coast; Mediterranean Sea: previously reported from the Ebro Delta, Spain (Soriano and Salgado, 2014) and Sardinia (Nappo and Loi 2015); now also Bizerte, Tunisia (present study).

Description: Shell of medium size for the genus, height 14-16 mm, ovate, slender spire about half total height. Protoconch paucispiral, of 1 smooth mamillate whorl. Teleoconch of 5-6 convex whorls, base moderately constricted, suture impressed. Axial sculpture of orthocline, nodulose ribs, slightly sinuose anteriorly, larger than interspaces, 9-11 on the first whorl, 13-14 on the last whorl. Spiral sculpture of numerous cords, thinner than axials, irregularly spaced, and of varying size, the abapical thinner than the adapical, 4-5 on the first whorl, 15-18 on the last whorl. Siphonal canal short, notched, fasciole low rounded. Aperture ovate, columellar wall concave medially, twisted anteriorly; outer lip thickened, the inner side with 8 strong denticles, the posteriormost stronger than the parietal, together delimiting a posterior canal. Colour yellow to orange, with dark brown to black axial interspaces, a white spiral band on medial part of the spire.

Remarks: *Aplus assimilis* differs from *A. dorbignyi*, *A. gaillardoti*, *A. nodulosus*, *A. scaber* and *A. campisi* by its more rounded whorls and less pronounced sculpture. This species was long known from the eastern Atlantic and is commonly found along the African coasts and in the Canary Islands (Pope and Goto, 1991). It has been only recently recorded from the Mediterranean, off the Ebro delta in Spain and in southern Sardinia. The present record from northeastern Tunisia (Bizerte) is based on specimens collected in 2014. We cannot decide at present whether we are dealing with a species only recently arrived into the Mediterranean, or whether it was so far unrecognized due to its similarity with the other variable native species of *Aplus*.

***Aplus scacchianus* (Philippi, 1844)**

Purpura picta Scacchi, 1836 (invalid name: homonym of *Purpura picta* Turton, 1825)

Buccinum scacchianum Philippi, 1844 (nom. nov. pro *Purpura picta* Scacchi, 1836, non Turton, 1825).

Type material: not present in Museum für Naturkunde der Humboldt-Universität (Berlin) where many of Philippi (1836, 1844) types are kept.

Type locality: Posilippo near Naples, Italy.

Distribution: Western Mediterranean Basin; Aegean Sea, Greece (Pope and Gotto, 1991).

Material examined: 1 sequenced specimen from Isola d'Elba, Italy (MNHN IM-2013-32673), 1 sequenced specimen from Marmaros Halkadikci, Greece (MNHN IM-2013-32771), 10 sequenced specimens from Astypalea, Aegean Sea, Greece (BAU 1551_2, BAU 151_4, BAU 1510_6, BAU 1510_1, BAU 1510_2, BAU 1510_3, BAU 1510_5, BAU 1551_1, BAU 1551_3, BAU 1551_4) (Department of Biology and Biotechnologies "Charles Darwin").

Description: Shell of small-medium size for the genus, height 10-15 mm, ovate, slender, last whorl 3/5 total height. Protoconch paucispiral, of 1.5 smooth mamillate whorls, height 715 µm width 760 µm. Teleoconch of 5-6 convex whorls, base moderately constricted, suture evident but not impressed. Axial sculpture of orthocline, not elevated, nodulose ribs, broader than interspaces, 10-12 on the first whorl, 15-17 on the last whorl. Spiral sculpture of numerous primary cords and secondary fine cords, thinner than axials, regularly spaced, 4 cords on the first whorls, 20-23 cords and 5-10 secondary fine cords on the last whorl. Siphonal canal short, notched. Aperture ovate, columellar wall concave medially, twisted and with 1-2 plications anteriorly, with a parietal denticle posteriorly; outer lip thickened, the inner side with 8-9 strong denticles, the posteriormost stronger than the parietal, together delimiting a posterior canal. Colour withish, with brown to dark brown spots irregularly set; a medial area without dark spots or with lighter ones. Periostracum thin, light brown, easily lost after death.

Remark: *Buccinum scacchianum* is a replacement name of *Purpura picta* Scacchi, 1836 (junior primary homonym of *Purpura picta* Turton, 1825). *Aplus scacchianus* is the most distantly related among the species of this group (it is the sister to all the other in the molecular tree). It differs from all the remaining species by its smaller size and more slender shell. Additionally, the colour pattern of brown to dark brown spots irregularly set is also diagnostic.

Discussion

We have recognized seven distinct species of *Aplus* in the Mediterranean. With the exception of *Aplus scacchianus*, which is clearly well separated both morphologically and phylogenetically, the other species revealed a pattern of relationships congruent with that of other complexes of Mediterranean gastropods. The complex of *Aplus dorbignyi* includes in fact a species of clearly Atlantic origin, namely *Aplus assimilis*, which is also the sister to the remaining species of the complex. Then the complex includes one species confined to the eastern Mediterranean (*Aplus gaillardoti*), one so far known only from Sicily (*A. nodulosus*), and two with broad western Mediterranean ranges (*A. scaber*, *A. dorbignyi*), possibly three if the Alboran material is proved conspecific with *A. campisii* from Sicily. The relatively large genetic divergence among the species of this complex (>10%), notwithstanding their morphological similarity (and the frequently overlapping morphological variation) is not infrequent in Mediterranean gastropods. Similar patterns have been recently observed in the sessile vermetids of the genus *Dendropoma* (Calvo et al. 2009, Calvo et al. 2015), and in the small muricids of the genus *Ocenebrina* (Barco et al. 2013). The fossil history of this complex is documented by a relatively large record (Brunetti and Della Bella 2014) which would be crucial to date nodes of molecular phylogenetic hypotheses and then infer biogeographical dynamics. However, it is here highlighted that, similar to what occurs with the small mussel drills *Ocenebrina* (Barco et al. 2013), classification of fossil shells of *Aplus* might underestimate actual diversity, and probably requires more sophisticated tools (e.g. morphometrics) to disentangle their actual variation.

Acknowledgements

The material for molecular studies in this paper derived partly from field work in the Gulf of Gabès and we are grateful to participants in the field parties, Philippe Maestrati, Emmanuel Vassard, Gianni Spada, and Jean Pierre Miquel for their help in sampling. Our special thanks to Konag Kyriakos, Peter Stahlschmidt, Jean-Pierre Miquel, Andrea Nappo and Serge Gofas for collecting material respectively in Greece, Sicily, Sardinia, France and Alboràn. Virginie Héros, Barbara Buge and Philippe Maestrati helped with the curation of vouchers and access to MNHN historical material. We also thank Yuri Kantor, Serge Gofas and Gianni Spada for their help in the morphological analysis and their taxonomic expertise. Tiziano Cossignani is acknowledged for the photographs of *Aplus campisii*. This work was carried in part at the Service de Systématique Moléculaire (UMS 2700 CNRS, MNHN), and we acknowledge the assistance of Delphine Gay during molecular manipulations; part of the specimens were processed during practice of the 2015 course in Marine Biodiversity methods at ‘La Sapienza’ University, and we acknowledge the work of the students.

References

- Amio M. 1963. A comparative embryology of marine gastropods, with ecological considerations. *J. Shimonoseki Univ. Fish.* 12: 229–355
- Ardovini R. 2015. Descrizione di una nuova specie di *Polia* dalla Sicilia Sud-orientale. *Malacologia Mostra Mondiale*, 86: 12-13.
- Barberousse A., Samadi S. 2010. Species from Darwin onward. *Integrative Zoology*, 5: 187–197.
- Barco A, Houart .R., Bonomolo G, Crocetta.F, Oliverio M. 2013. Molecular data reveal cryptic lineages within the northeastern Atlantic and Mediterranean small mussel drills of the *Ocenebrina edwardsii* complex (Mollusca: Gastropoda: Muricidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 169: 389–407.
- Bellardi L. 1872. *Molluschi dei terreni Terziari del Piemonte e della Liguria. Parte I. Gasteropoda (Muricidae et Tritonidae)*. Stamperia Reale, Torino, 264 pp.
- Bivona-Bernardi Ant. 1832. Caratteri d'un nuovo genere di conchiglie della famiglia delle Columellarie del Signor de Lamarck. *Effemeride Scientifiche e Letterarie per la Sicilia* 2 (1): 8-13
- Bouchet P., Gofas S. 2015. *Buccinidae Rafinesque, 1815*. In: *MolluscaBase (2015)*. Accessed through: World Register of Marine Species at <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=149> on 2015-09-10
- Brunetti M.M., Della Bella G. 2014. La famiglia Buccinidae Raphinesque, 1815 nel Plio-Pleistocene italiano: i generi *Aplus* De Gregorio, 1884, *Engina* Gray, 1839 e *Gemophos* Olsson and Harbinson, 1953 (Gastropoda). *Bollettino Malacologico*, 42: 118-120.
- Calvo M., Alda F, Templado J., Oliverio M., Machordom A. 2015. Surviving the Messinian Salinity Crisis? Divergence patterns in the genus *Dendropoma* (Gastropoda: Vermetidae) in the Mediterranean Sea. *Mol. Phylogenet. Evol.* 91: 17–26.
- Calvo M., Templado J., Oliverio M., Machordom A. 2009. Hidden Mediterranean biodiversity: molecular evidence for a cryptic species complex within the reef building gastropod *Dendropoma petraeum* (Mollusca: Caenogastropoda). *Biol. J. Linn. Soc.* 96: 898–912.
- Claremont M., Williams S.T., Barraclough T.G., Reid D.G. 2011. The geographic scale of speciation in a marine snail with high dispersal potential. *Journal of Biogeography* 38: 1016–1032

- De Queiroz K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology*, 56: 879-886.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294–299.
- Garcia E.F., 2008. Four new buccinid species (Gastropoda: Buccinidae) from the Western Atlantic. *Novapex*, 9: 141-148.
- Giannuzzi-Savelli R, Pusateri F, Palmeri A, Ebreo C. 2003. *Atlante delle conchiglie marine del Mediterraneo. Vol. 4 (Neogastropoda: Muricoidea)*. Rome: Evolver. 298 pp.
- Gofas S, Moreno D, Salas C (eds) 2011. *Moluscos marinos de Andalucía: Vol.I-II*. Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico Universidad de Málaga, Málaga.
- Gofas S. 1998. Marine molluscs with a very restricted range in the Strait of Gibraltar. *Diversity and Distribution* 4: 255-266
- Gofas S., Le Renard, J. (Eds.) 2015. *CLEMAM: Check List of European Marine Mollusca*. Available from: [http:// www.somali.asso.fr/clemam/index.clemam.html](http://www.somali.asso.fr/clemam/index.clemam.html) (accessed 31 October 2015)
- Golikov A.N. 1980. Molluscs Buccininae of the world Ocean. *Fauna of the USSR, Mollusca*, 5: 1-465, + 42 pls.
- Hayashi S. 2005. The molecular phylogeny of the Buccinidae (Caenogastropoda: Neogastropoda) as inferred from the complete mitochondrial 16S rRNA gene sequences of selected representatives. *Molluscan Research*, 25: 85–98.
- Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., Gibson T.J., Higgins D.G. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23: 2947–2948.
- Locard A. 1892. *Les coquilles marines des côtes de France*. Paris Baillière, 384 pp.
- Nylander, J.A.A. 2004. *MrModeltest v2*. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.
- Payraudeau B.C. 1826. *Catalogue descriptif et méthodique des annélides et des mollusques de l'île de Corse*. Paris. 218 pp.
- Philippi R.A. 1884. *Enumeratio molluscorum Siciliae*. Halis Saxonum, 2: 1-303.
- Poppe G.T., Goto Y. 1991. *European seashells. Vol. I*. Verlag Christa Hemmen, Wiesbaden, 221 pp.
- Prockow M., Mackiewicz P., Pienkowska J.R. 2013. Genetic and morphological studies of species status for poorly known endemic *Trochulus phorochaetius* (Bourguignat,

- 1864) (Gastropoda: Pulmonata: Hygromiidae), and its comparison with closely related taxa. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 169: 124-143.
- Puillandre N., Sysoev V.A, Olivera M.B, Couloux A., Bouchet P. 2010. Loss of planktotrophy and speciation: geographical fragmentation in the deep-water gastropod genus *Bathytoma* (Gastropoda, Conoidea) in the western Pacific. *Systematics and Biodiversity*, 8: 371–394
- Puillandre N., Baylac M., Boisselier M.C., Cruaud C., Samadi S. 2009. An integrative approach to species delimitation in *Benthomangelia* (Mollusca: Conoidea). *Biological Journal of the Linnean Society*, 96: 696–708.
- Puillandre N., Lambert A., Brouillet S., Achaz G. 2012. ABGD automatic barcode gap discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, 21: 1864–1877.
- Puton E. 1856. Lettre au docteur Mougeot sur les Mollusques de Syrie, envoyés au musée des Vosges par M. le docteur Gaillardot. *Annales de la Société d'Émulation du Département des Vosges* 219-231
- Quinonero Salgado S., López Soriano J. 2014 Moluscos continentales del delta del Ebro (Cataluna, Espana). *Spira* 5, 121–132
- Ronquist F., Huelsenbeck J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572–1574
- Settepassi F., 1971. *Atlante malacologico I molluschi marini viventi nel Mediterraneo*. Volume 2, Roma, INIVAG, 295 pp.
- Vermeij G.J., Bouchet P. 1998. New Pisaniinae (Mollusca, Gastropoda, Buccinidae) from New Caledonia, with remarks on *Cantharus* and related genera. *Zoosystema* 20(3) 471-785.
- Vermeij G.J. 2006. The *Cantharus* group of Pisaniinae buccinid Gastropods: review of the Oligocene to recent genera and description of some new species of *Gemophos* and *Hesperisternia*. *Cainozoic Research*, 4: 71-96
- Vermeij G.J. 1978. *Biogeography and adaptation: patterns of marine life*. Cambridge: Harvard University Press.
- Vermeij G.J., Bouchet, P. 1998. New Pisaniinae (Mollusca, Gastropoda, Buccinidae) from New Caledonia, with remarks on *Cantharus* and related genera. *Zoosystema*, 20(3): 471-785
- Webber H.H., 1977. *Gastropoda: Prosobranchia*. In: Giesc, A.C., Pearse, J.S. (Eds.), *Reproduction of Marine Invertebrates, Molluscs: Gastropods and Cephalopods*, vol. IV

Zou S., Li Q., Kong L. 2012. Monophyly, distance and character-based multigene barcoding reveal extraordinary cryptic diversity in *Nassarius*: a complex and dangerous community. *PLoS ONE* 7: e47276. doi:10.1371/journal.pone.0047276

Table 1 List of the examined material with collection localities, vouchers ID numbers and GenBank accession numbers for the sequences.

Updated taxonomic identification	Voucher No.	Locality	GenBank Acc. no.
<i>Aplus dorbignyi</i> (Payraudeau 1826)	IM-2013-31696	Djerba, Borjj Djillij, 33°52,9'N, 10°44,6'E, 1-2 m depth	AAXXXXXX
	IM-2013-31697	Djerba, Borjj Djillij, 33°52,9'N, 10°44,6'E, 1-2 m depth	AAXXXXXX
	IM-2013-31698	Djerba, Borjj Djillij, 33°52,9'N, 10°44,6'E, 1-2 m depth	AAXXXXXX
	IM-2013-31717	Djerba, Borjj Djillij, 33°52,9'N, 10°44,6'E, 1-2 m depth	AAXXXXXX
	IM-2013-31740	Djerba, oumet Souk, 33°54'N, 10°48'E, 1-2 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-31931	Djerba, Sidi Souliman, 33°50'N, 11°01,07'E, 1-2 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-31932	Djerba, Sidi Souliman, 33°50'N, 11°01,07'E, 1-2 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-31841	Djerba, Sidi Jmour, 33°49,88'N, 10°44,83'E, 1-3 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-31842	Djerba, Sidi Jmour, 33°49,88'N, 10°44,83'E, 1-3 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-32077	Djerba, Sidi Jmour, 33°49,88'N, 10°44,83'E, 1-3 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-32078	Djerba, Sidi Jmour, 33°49,88'N, 10°44,83'E, 1-3 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2009-30840	Djerba, Mellita, 33°51.660'N, 10°44,83'E, 1-3 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-30811	Djerba, Mellita, 33°51.660'N, 10°44,83'E, 1-3 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1610	Galeria, Corsica, France, 42°02'36" N, 008°43'15" E 4 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1625_1	Tour d'Ancône, Calcatoggio, Corsica, France, 42°02'36" N 008°43'15" E 2-4 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1625_2	Tour d'Ancône, Calcatoggio, Corsica, France, 42°02'36" N 008°43'15" E 2-4 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1625_3	Tour d'Ancône, Calcatoggio, Corsica, France, 42°02'36" N 008°43'15" E 2-4 m depth	AAXXXXXX ^c
<i>Aplus scaber</i> (Locard, 1892)	IM-2013-31913	Djerba, Sidi Solimen, 33°50'N, 11°01,07'E, 1-2m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-31912	Djerba, Sidi Solimen, 33°50'N, 11°01,07'E 1-2 m depth,	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-32884	Saint Raphael, France, 43°25,32'N; 06°53' 69'E	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-32885	Saint Raphael, France, 43°25,32'N; 06°53' 69'E	AAXXXXXX ^c
<i>Aplus cf campisii</i> Ardovini 2014	IM_2009_5218	Isla de Tarifa, Cadiz, 36° 0' 11.7" N, 5° 36' 37.1" W	AAXXXXXX ^c
	IM_2009_5219	Isla de Tarifa, Cadiz, 36° 0' 11.7" N, 5° 36' 37.1" W	AAXXXXXX ^c
	IM_2009_5217	Isla de Tarifa, Cadiz, 36° 0' 11.7" N, 5° 36' 37.1" W	AAXXXXXX ^c
<i>Aplus assimilis</i> (Reeve, 1846)	IM-2013-32254	Bizerte, Menzel Jmil, 37°13.17'N, 09°54.34'E, 0-1 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-32225	Bizerte, Menzel Jmil, 37°13.17'N, 09°54.34'E, 0-1 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-32227	Bizerte, Menzel Jmil, 37°13.17'N, 09°54.34'E, 0-1 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-32228	Bizerte, Menzel Jmil, 37°13.17'N, 09°54.34E, 0-1 m depth,	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-32233	Bizerte, Menzel Jmil, 37°13.17'N, 09°54.34E, 0-1 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-32274	Bizerte, Menzel Jmil, 37°13.17'N, 09°54.34E	AAXXXXXX ^c

<i>Aplus gaillardoti</i> (Puton, 1856)	IM-2013-32513	Bizerte, Menzel Abderrahmen, 37°15.51'N, 09°51.32'E	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-32561	Bizerte, Errimel, 37°45,76'N, 09°56.17'E, 0-1 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-32564	Bizerte, Errimel, 37°45,76'N, 09°56.17'E, 0-1 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-32565	Bizerte, Errimel, 37°45,76'N, 09°56.17'E, 0-1 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-32568	Bizerte, Errimel, 37°45,76'N, 09°56.17'E, 0-1 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013_32773	Paxos Island, 39° 12.591' N, 20° 9.488' E, 1-2 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-32774	Paxos Island, 39° 12.591' N, 20° 9.488' E, 1-2 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM_2013_32775	Paxos Island, 39° 12.591' N, 20° 9.488' E, 1-2 m depth	AAXXXXXX ^c
	IM_2013_32778	Paxos Island, 39° 12.591' N, 20° 9.488' E, 1-2 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1500	Analipsi, Astypalea Is., Greece, 36°34'25" N, 026°23'02" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1575_3	Kotsoumiti Is., Greece, 36°32'49" N, 026°26'36" E, 1-12 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1558_1	Mikro-Vai, Astypalea Is. Greece, 36°36'11" N, 026°23'38" E, 1-7m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1558_4	Kotsoumiti Is., Greece, 36°32'49" N, 026°26'36" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1558_5	Mikro-Vai, Astypalea Is. Greece, 36°36'11" N, 026°23'38" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1558_2	Mikro-Vai, Astypalea Is. Greece, 36°36'11" N, 026°23'38" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1558_7	Mikro-Vai, Astypalea Is. Greece, 36°36'11" N, 026°23'38" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1509_1	Analipsi, Astypalea Is., Greece, 36°34'25" N, 026°23'02" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1509_3	Analipsi, Astypalea Is., Greece, 36°34'25" N, 026°23'02" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1509_2	Analipsi, Astypalea Is., Greece, 36°34'25" N, 026°23'02" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1558_6	Mikro-Vai, Astypalea Is. Greece, 36°36'11" N, 026°23'38" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1558_2	Mikro-Vai, Astypalea Is. Greece, 36°36'11" N, 026°23'38" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX ^c
<i>Aplus scacchianus</i> (Philippi, 1844)	IM-2013-32771	Marmaros, Halkidikci, 40° 22.901'N, 23° 26.56'E	AAXXXXXX ^c
	IM-2013-32673	Elba Is., Italy, 42° 44. 49'N, 10° 9.34'E	AAXXXXXX ^c
	BAU 1551_2	Analipsi, Astypalea , Greece, 36°34'25" N, 026°23'02" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1510_4	Analipsi, Astypalea , Greece, 36°34'25" N, 026°23'02" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1510_6	Analipsi, Astypalea , Greece, 36°34'25" N, 026°23'02" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1510_1	Analipsi, Astypalea , Greece, 36°34'25" N, 026°23'02" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX ^c
	BAU 1510_2	Analipsi, Astypalea , Greece, 36°34'25" N, 026°23'02" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX ^c

<i>Aplus nodulosus</i> (Bivona Ant., 1832)	BAU 1510_3	Analipsi, Astypalea , Greece, 36°34'25" N, 026°23'02" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX°
	BAU 1510_5	Analipsi, Astypalea , Greece, 36°34'25" N, 026°23'02" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX°
	BAU 1551_1	Vai, Astypalea Is., Greece, 36°35'13" N, 026°24'10" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX°
	BAU 1551_3	Vai, Astypalea Is., Greece, 36°35'13" N, 026°24'10" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX°
	BAU 1551_4	Vai, Astypalea Is., Greece, 36°35'13" N, 026°24'10" E, 1-7 m depth	AAXXXXXX°
	IM-2013-32877	Sicily, Palermo, N 38° 6.941', 13° 21.676' E	AAXXXXXX°
	IM-2013-32878	Sicily, Palermo, N 38° 6.941', 13° 21.676' E	AAXXXXXX°
	IM-2013-32879	Sicily, Palermo, N 38° 6.941', 13° 21.676' E	AAXXXXXX°

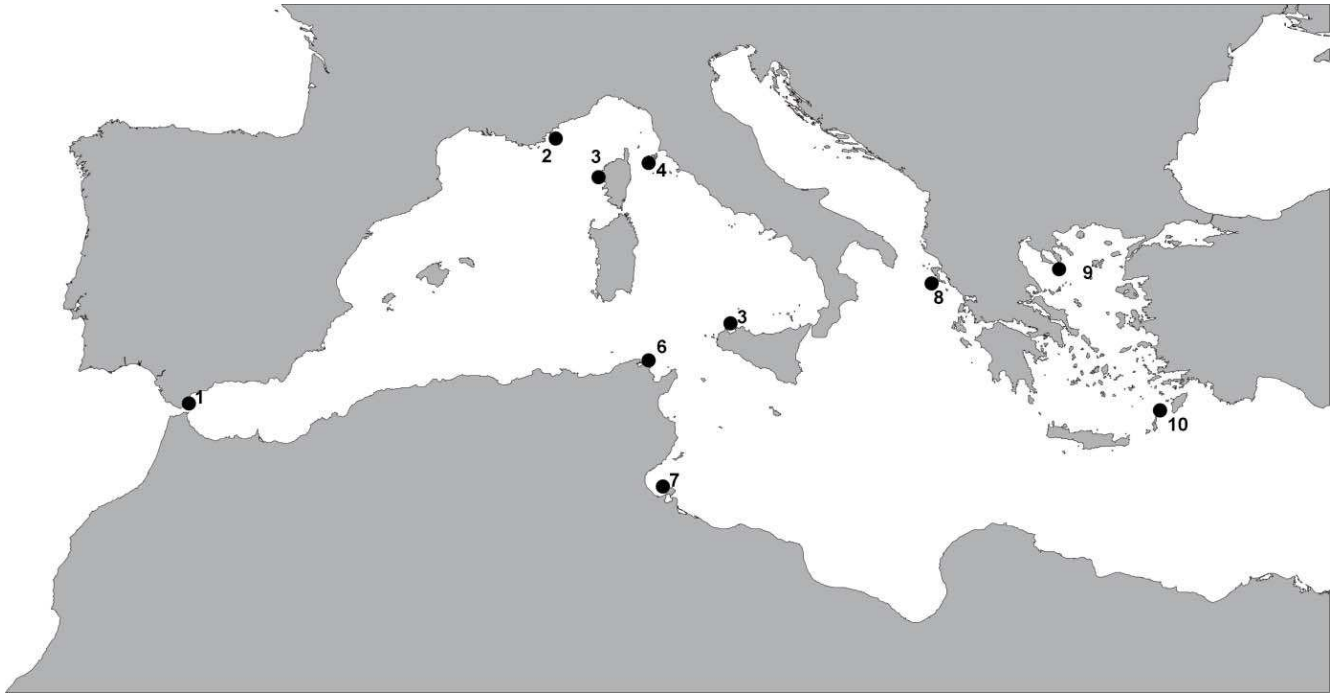


Fig.1. Map showing sampling sites where molecular material was obtained (see Table 1 for details). 1. Tarifa Island, Spain. 2. Saint Raphaël, France. 3. Calcatoggio, Corsica. 4. Elba Island, Italy. 5. Palermo, Sicily. 6. Bizerte, Tunisia. 7. Djerba Is., Tunisia. 8. Paxos Is., Greece. 9. Marmaros, Halkidiki, Greece. 10 Astypalea Is., Greece.

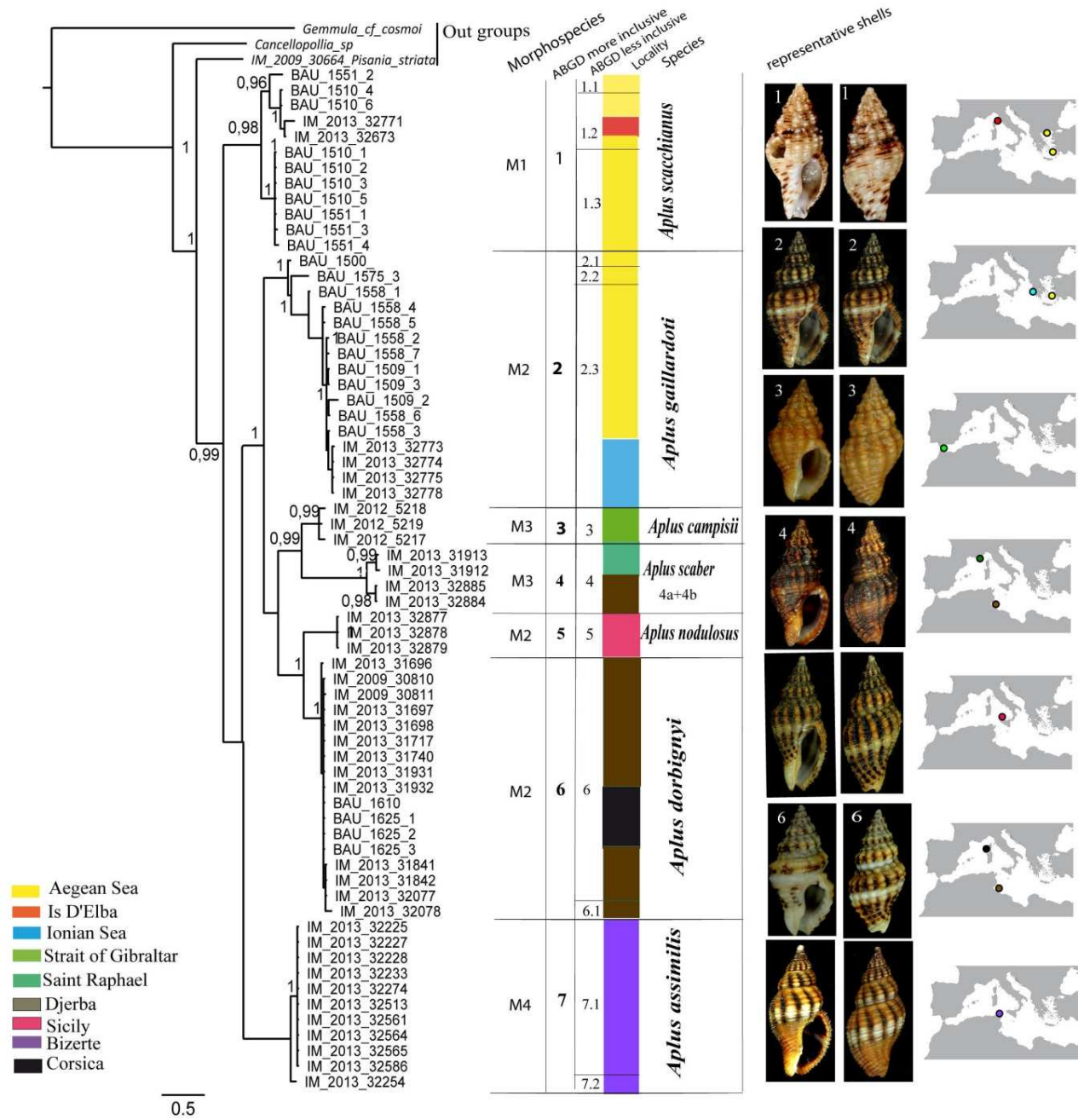
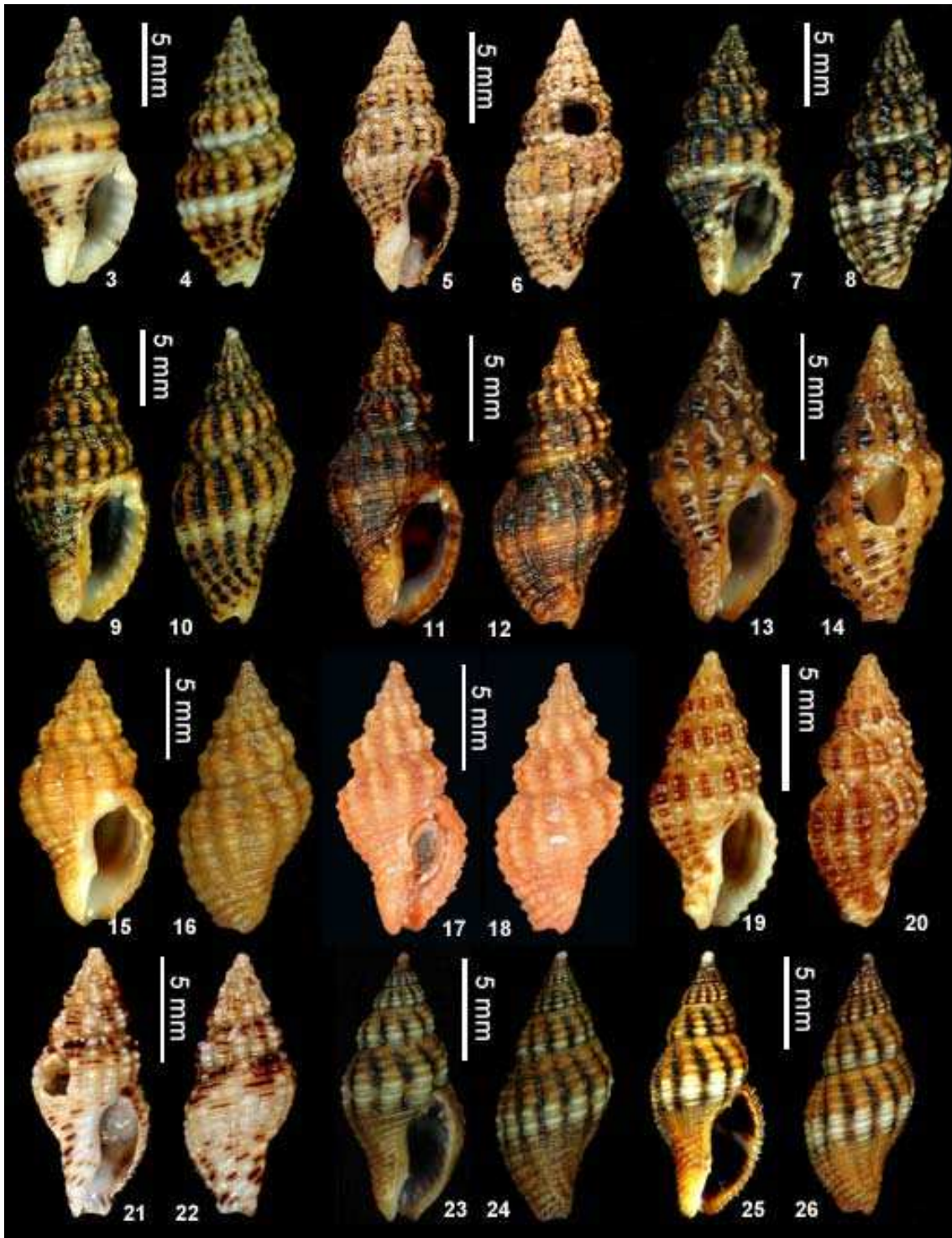
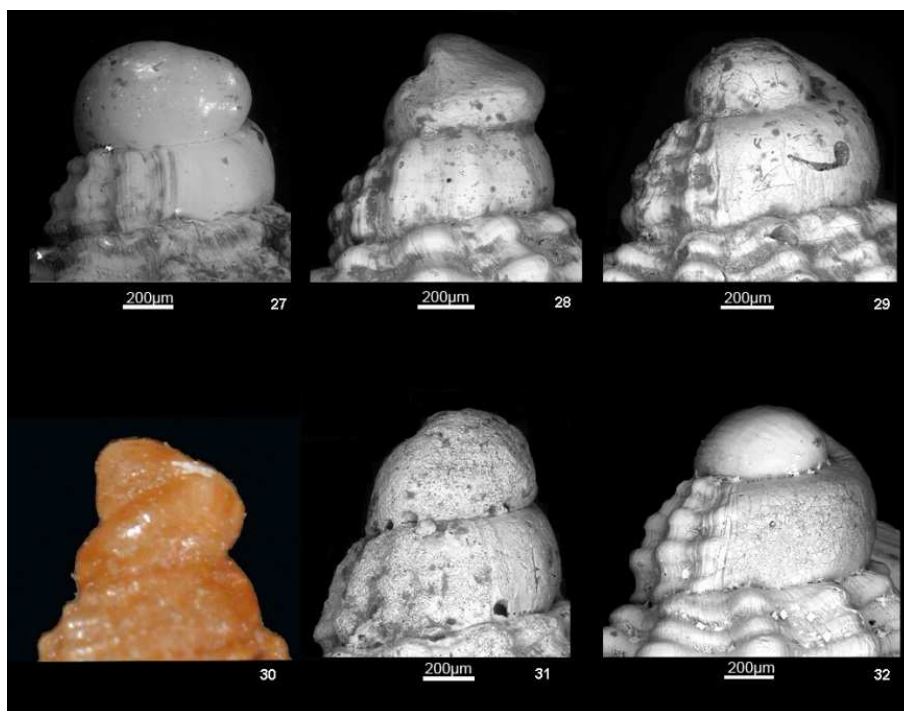


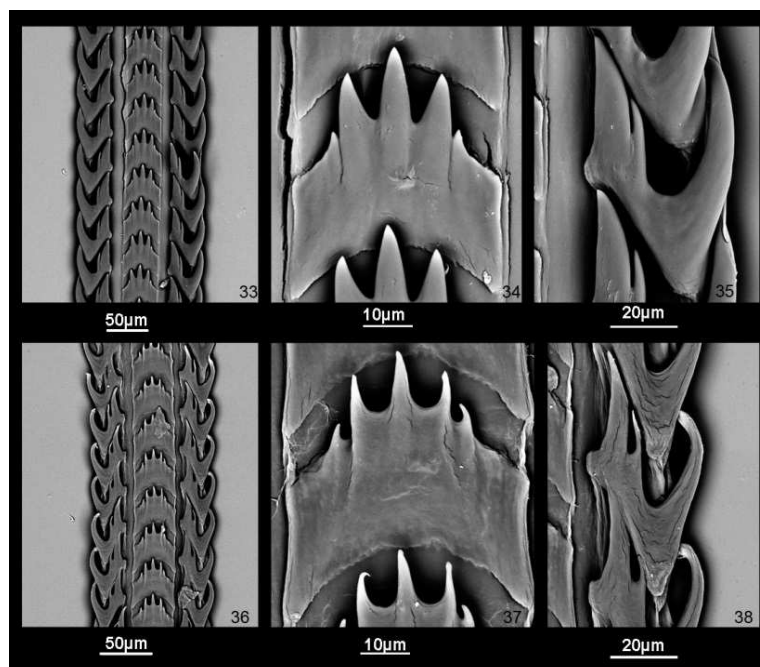
Fig.2. Bayesian phylogenetic tree based on the COI alignment (GTR+I+G model of evolution; 5×10^6 generations and 25% burnin). Numbers at nodes indicate the Bayesian posterior supports (only values >0.9 are reported). Morphospecies (M1-M4) indicate the morphological primary identification of the assayed specimens. ABGD more and less inclusive partitions report the MOTUs (1-7 and 1.1-7.2, respectively) as molecularly identified. The shell of one assayed specimen for each of the 7 major lineages are reported.



Figs 3–26. Shell morphological variation in the *Aplus dorbignyi* complex. 3, 4. *Aplus dorbignyi*, Djerba, Tunisia, (MNHN). 5, 6. *Aplus dorbignyi* Calcatoggio, Corsica (neotype MNHN IM-2000-31672). 7, 8 *Aplus gaillardoti*, Paxos Is., (MNHN). 9, 10. *Aplus nodulosus*, Palermo, Sicily, (neotype MNHN IM-2013-32887). 11, 12. *Aplus scaber*, Djerba, Tunisia, (MNHN). 13, 14. *Aplus scaber* Saint Raphaël, France, MNHN; 15, 16. *Aplus cf. campisii*, Tarifa, Spain (MNHN). 17, 18. *Aplus campisii*, south-eastern Sicily (holotype, Malacologia Mostra Mondiale, Cupra Marittima: photo courtesy T. Cossignani). 19-20. *Aplus scaber*, Toulon, France (syntype MNHN- IM-2000-27765). 21-22. *Aplus scacchianus*, Elba Is., Italy, (MNHN). 23-26. *Aplus assimilis*, Bizerte, Tunisia (MNHN). Scale bars 5 mm.



Figs 27–32. Protoconch morphology in the *Aplus dorbignyi* complex. 27 *Aplus dorbignyi*, Djerba, Tunisia (MNHN IM-2013-31697). 28. *Aplus scaber*, Djerba, Tunisia (MNHN IM-2013-31913). 29. *Aplus cf. campisii*, Tarifa, Spain (MNHN IM- IM-2009-5219). 30. *Aplus campisii*, south-eastern Sicily (holotype, Malacologia Mostra Mondiale, Cupra Marittima: photo courtesy T. Cossignani). 31. *Aplus assimils*, Bizerte, Tunisia (MNHN IM-2013-32513). 32. *Aplus scacchianus*, Elba Is., Italy (MNHN IM-2013-32673). Scale bars 200 μ m.



Figs 33–37. Morphology of radula with detail of central and lateral teeth in the *Aplus dorbignyi* complex. 33–35. *Aplus assimils*, Bizerte, Tunisia (MNHN IM-2013-32513). 36–38. *Aplus dorbignyi*, Djerba, Tunisia (MNHN M-2013-31697). Scale bars 50 μ m (33, 36), 10 μ m (34, 37) and 20 μ m (35, 38).

CHAPITRE V

LES NASSARIIDAE DU GOLFE DE GABES : ENDEMISME ET DIVERSITE CRYPTIQUE

5.1 Introduction

A l'exception des micro-mollusques et des nudibranches, la majeure partie des espèces de mollusques en Méditerranée a été découverte avant les 19^{ème} et 20^{ème} siècles. Durant cette période le travail de Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus (1882-1886, 1887-1898) est resté le guide d'identification standard des mollusques méditerranéens durant presque un siècle. La découverte des espèces endémiques au bassin oriental (par exemple, Oberling 1970, Amati & Oliverio 1987) ou bien dans le bassin occidental (par exemple Curini-Galletti 1982, Gofas 1998) et l'utilisation des techniques moléculaires (e. g. Barco *et al.* 2013, Calvo *et al.* 2015) ont révélé la complexité de la biogéographie méditerranéenne. Dans ce contexte l'ouvrage de Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus apparaît maintenant désuet.

En se basant sur le nombre élevé d'espèces considérées comme propres au golfe de Gabès, Monterosato (1879), Pallary (1904, 1912), Ghisotti (1982), ont considéré cette région comme un écosystème naturel remarquable et idéal pour tester les processus récents de la spéciation (Sabelli & Taviani 1980, 2015) en Méditerranée. En effet, comme nous l'avons signalé dans le chapitre I, sur 584 espèces, 33 espèces ont été admises comme endémiques au golfe de Gabès (Cecalupo *et al.* 2008). Toutefois, et à l'exception de quelques cas ces taxons endémiques ont été reconnus uniquement sur la base de la morphologie de la coquille et nécessitent d'être évalués génétiquement pour vérifier leur statut taxonomique comme le montrent des travaux récents (*Ocinebrina hispidula*: Barco *et al.* 2013; *Diodora demartiniorum*: Aissaoui *et al.* 2016).

La famille des Nassariidae (Gastropoda, Buccinoidea) en Méditerranée et Atlantique est un bon exemple de confusion et d'incertitude sur les espèces (et même le genre) en raison de la forte variation au niveau de la morphologie de la coquille (ex : Rolan & Luque 1995, Moreno & Templado 1995). Traditionnellement, *Nassarius* anciennement « *Nassa* » a été utilisé pour inclure la majorité des espèces de Nassariidae dans tous les océans du monde (Cernohorsky 1984). Cependant, une phylogénie moléculaire récente (Galindo *et al.* 2016) a démontré que le genre *Nassarius* est polyphylétique. L'espèce type de *Nassarius* est une espèce Indo-Pacifique (et *Nassarius* apparaît un clade uniquement Indo-Pacifique). Le nom générique adopté pour le clade Nord Atlantique et Méditerranée est *Tritia* Risso, 1826 (Galindo *et al.* 2016).

5.2 Endémisme ou variation?

Les Nassariidae du golfe de Gabès sont traités dans plusieurs travaux notamment ceux de Monterosato 1880; Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus 1882; Pallary 1904, 1906) et Cecalupo *et al.* 2008. Au total 14 taxons nominaux ont été décrits comme endémiques du golfe de Gabès (dont 7 sont invalides de point de vue nomenclaturale) et sont considérés actuellement comme « variétés », « formes » ou sous espèces. En plus de ces taxons, 6 autres espèces à large distribution méditerranéenne sont présentes dans le golfe de Gabès (Cecalupo *et al.* 2008). Ce nombre d'espèces est comparable à celui d'autres secteurs de la Méditerranée (7 espèces dans le Golfe of Lion, Pelorce 2007; 8 espèces dans l'île de Procida en Italie, Soppelsa *et al.* 2007; 7 espèces à Algésiras, Espagne, Aartsen *et al.* 1984) mais moins riche que celui de régions intensivement étudiées comme Malte où 12 espèces sont signalées.

Pour mieux apprécier la diversité des Nassariidae du golfe de Gabès, nous proposons de les réviser en utilisant une approche intégrative basée sur deux gènes (28s et COI) consolidée par des caractères morphologiques (sculpture, protoconque, téleoconque...) et géographiques. L'objectif principal de cette révision est de répondre aux questions suivantes:

- (1) Les espèces communes à large répartition présentes dans le golfe de Gabès présentent-elles une différenciation génétiques par rapport à leurs homologues dans le reste de la Méditerranée ?
- (2) Les taxons nominaux endémiques du golfe de Gabès sont-ils de bonnes espèces ou des variétés écophénotypiques?

Les principaux résultats de cette étude ont fait l'objet d'un article accepté avec corrections mineures dans *Marine Biological Research*: **“The nassariids from the Gulf of Gabès revisited (Neogastropoda, Nassariidae)” (Article 3).**

Dans cette étude, il apparaît que le golfe de Gabès est riche en variétés écophénotypiques mais referme également quatre espèces endémiques (dont deux nouvelles) : *T. lanceolata* (Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882), *T. tenuicosta* (Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882), *T. pallaryana* n. sp. et *T. djerbaensis* n. sp. Ce travail montre donc l'existence de 8 espèces de *Tritia* dans le golfe de Gabès (avec *Tritia gibbosula* (Linnaeus, 1758) non échantillonnée) dont trois à large répartition: *Tritia neritea* (Linnaeus, 1758) [probablement introduite], *T. mutabilis* (Linnaeus, 1758), *T. corniculum* (Olivi, 1792). Il est remarquable de constater que toutes les espèces ont une protoconque paucispirale indiquant un stade larvaire non-planctonique.

**Article 3: THE NASSARIIDS FROM THE GULF OF GABÈS REVISITED
(NEOGASTROPODA, NASSARIIDAE)**

CHRIFA AISSAOUI^{1, 2}, LEE ANN GALINDO¹, NICOLAS PUILLANDRE^{3*}, PHILIPPE BOUCHET¹

¹ Institut de Systématique, Évolution, Biodiversité ISYEB - UMR 7205 – CNRS, MNHN, UPMC, EPHE, Muséum national d'Histoire naturelle, Sorbonne Universités, 55 rue Buffon, F-75005, Paris, France

² Université de Carthage, Unité Hydrobiologie littorale et limnique, Laboratoire de Biosurveillance de l'Environnement, Faculté des Sciences de Bizerte, 7021 Jarzouna, Tunisie

³ Institut de Systématique, Évolution, Biodiversité ISYEB - UMR 7205 – CNRS, MNHN, UPMC, EPHE, Muséum national d'Histoire naturelle, Sorbonne Universités, 43 rue Cuvier, F-75005, Paris, France

* Corresponding author: puillandre@mnhn.fr

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to the colleagues who helped us collect in the Gulf of Gabès or sent us specimens from other Mediterranean and Atlantic localities: Manuel Caballer, Serge Gofas, Philippe Maestrati, Javier Martin, Jean Pierre Miquel, Leopoldo Moro, Marco Oliverio, Gianni Spada, Jacques Pelorce and Emmanuel Vassard and. Special thanks go to Gianni Spada who did the primary morphospecies segregation and to Hugo Kool who compared our material to his reference collection and offered opinions and suggestions. Yves Samyn (RBINS) facilitated our examination of the material in the Dautzenberg collection. For images acquisition, we acknowledge the support of Sylvain Pont (MEB) and Manuel Caballer (E-RECOLTNAT project: ANR-11-INBS-0004) of the MNHN Directorate of Collections. Virginie Héros, Barbara Buge and Philippe Maestrati helped with the curation of vouchers and access to MNHN historical material.

FUNDING

This project was partially supported by the network "Bibliothèque du Vivant" funded by the CNRS-MNHN-INRA-CEA (Genoscope) and by the MNHN ATM "Barcode" (PIs: S. Samadi and J.N. Labat).

ABSTRACT

Since the latter half of the 19th century, marine biologists have recognized that many molluscs living in the Gulf of Gabès, on the southern coast of Tunisia, exhibit a number of morphological characters that set them apart from the "typical form or variety" that occurs in the rest of their Mediterranean distribution area. In the family Nassariidae, local "forms" (varieties or subspecies) were recognized as early as 1882, but none of these is currently recognized as having taxonomical significance. We have revisited the species-level systematics of the family using an integrative approach, based on morphological, geographic and molecular evidence (COI and 28S). Beside *Tritia gibbosula* (not sampled by us), we delimitate seven species, three with a broad range: *Tritia neritea* (Linnaeus, 1758) [probably introduced]; *T. mutabilis* (Linnaeus, 1758), but with considerable genetic structure between localities; *T. corniculum* (Olivier, 1792); and four, not previously recognized as valid species, and which may be considered Gulf of Gabès endemics: *T. lanceolata* (Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882), *T. tenuicosta* (Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882), *T. pallaryana* n. sp., and *T. djerbaensis* n. sp. Besides, *Tritia elongata* (Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882), is recognized as a valid species in the *T. corniculum* complex, with a distribution outside the Gulf of Gabès. It is remarkable that all have paucispiral protoconchs indicating non-planktotrophic larval development.

Key words: *Nassarius*, *Tritia*, endemism, new species, integrative taxonomy, Gulf of Gabès, cryptic diversity.

INTRODUCTION

The Mediterranean has been a cradle of molluscan systematics. With the exception of micromolluscs and nudibranchs, the bulk of Mediterranean molluscan species has been discovered and named often before the turn of the 19th-20th centuries, and the work of Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus (1882-1886, 1887-1898) remained the standard identification guide of Mediterranean molluscs for almost a century. This stasis in the taxonomy of Mediterranean molluscs has contributed in building and perpetuating the view of a unified Mediterranean, from Gibraltar to the Levant, and from the Adriatic to the coasts of North Africa. Leaving aside the major impact of the Lessepsian migration, the discovery of species endemic to the eastern basin (e. g., Oberling 1970; Amati & Oliverio 1987) or with restricted range in the western basin (e. g., Curini-Galletti 1982; Gofas 1998) gave evidence of more complex biogeographical patterns. The advent of molecular techniques (e. g., Barco et al. 2013; Calvo et al. 2015) is now revealing the full complexity of Mediterranean biogeography, which can be linked to the dramatic changes in its configuration and climate over the last ten million years. One of the "special" places in the Mediterranean is the Gulf of Gabès, which has been described as a potential species "factory" (Sabelli & Taviani 1980, 2015), based on the high number of apparently exclusive mollusc species inhabiting this Tunisian site (Monterosato 1880; Pallary 1904, 1906, 1912; Ghisotti 1972). In the most recent review of the mollusc fauna of the Gulf, Cecalupo et al. (2008) listed 584 species, of which 33 were considered valid and endemic. With a couple of exceptions (*Ocenebrina hispidula*: Barco et al. 2013; *Diodora demartiniorum*: Aissaoui et al. submitted), such endemic taxa have been recognized solely based on shell morphology and they still have yet to be evaluated genetically to ascertain their taxonomic status.

Against this background, the systematics of the family Nassariidae (Gastropoda, Buccinoidea) in the Mediterranean-Atlantic is emblematic of this revival in Mediterranean mollusc systematics and its impact on our perception of biogeographic patterns, with evidence of pairs or complexes of confusing similar species (Rolan & Luque 1995, Moreno & Templado 1995), and the existence of species with restricted ranges, e.g., *Nassarius lousi* (Pallary, 1912) on the coasts of the Levant, or *Nassarius tinei* (Maravigna, 1840) endemic to Sicily. Traditionally, *Nassarius* has been used to include the majority of nassariid species throughout the world ocean. However, a recent molecular phylogeny has demonstrated that this concept of *Nassarius* is polyphyletic. The type species of *Nassarius* is an Indo-Pacific species and the generic name to be adopted for the Mediterranean and northern Atlantic clade is *Tritia* Risso, 1826 (Galindo et al. 2016).

Historically, the nassariids from the Gulf of Gabès have consistently been identified with species broadly distributed in the Mediterranean, and 6 species have positively been recorded from the Gulf (Cecalupo et al. 2008): *Tritia unifasciata*, *T. cuvierii*, *T. corniculum*, *T. mutabilis*, *T. neritea* and *Tgibbosula*. This is slightly below average in terms of species richness: for instance, among the 28 nassariid species recorded from the Mediterranean (Alf & Haszprunar 2016), 12 are recorded from Malta (Cachia et al. 2001), 8 from Isola di Procida, Campania, Italy (Soppelsa et al. 2007), 7 from the Gulf of Lion, France (Pelorce 2007) and from Algeciras, Spain (van Aartsen et al. 1984). However, local "forms" were recognized in the Gulf of Gabès as early as 1882, and were ranked as "varieties" (Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus 1882, Pallary 1900, 1904, 1906) or subspecies (Pallary 1904, 1906) - with the distinction between the two ranks not explicit (Table 1). To summarize, although historically 14 nominal taxa were established at the rank of subspecies or variety with Gulf of Gabès type localities (of these, 7 are nomenclaturally unavailable or invalid), these are now all considered to be variants ("forms" or "varieties") without taxonomic significance.

The purpose of the present paper is to revisit the status of the Gulf of Gabès populations of nassariids and answer the following questions: (1) Are the Gulf of Gabès nassariids genetically differentiated from other populations? (2) What is the status (ecophenotypic variants? Geographically localized evolutionary units?) of the nominal taxa that have been established for Gulf of Gabès nassariids?

MATERIALS AND METHODS

Samples

Ninety-three specimens of Nassariidae from the Gulf of Gabès (30 specimens) and other Mediterranean and Atlantic localities (63 specimens) (Figure 1) were preserved in absolute ethanol for molecular analysis. The soft parts were extracted from the shell. The shells were photographed and retained as vouchers in MNHN (Muséum national d'Histoire naturelle). The collecting locality data, voucher numbers and GenBank accession numbers for each specimen are presented in Table 2.

Historical material from the Gulf of Gabès, including name-bearing types, were examined in MNHN and Royal Belgian Institute of Natural Sciences (RBINS).

Specimen identification

Prior to the molecular analysis, specimens were first clustered intuitively into morphologically homogeneous groups by two independent taxonomists, well versed in the systematics of Mediterranean gastropods (Gianni Spada) and Nassariidae worldwide (Hugo Kool). All specimens were first grouped using a blind approach, i.e. without any consideration of the genetic groups. In a second round, when the morphospecies were not in agreement with the molecular results, the shell morphology was re-examined and specimen identification was revised when necessary. Finally the different species hypotheses were assigned to a species name available in the literature.

DNA Sequencing

DNA was extracted from a piece of muscle tissue using the DNeasy 96 Tissue kit (Qiagen). A fragment of Cytochrome Oxidase I (COI) mitochondrial gene and the first subunit of 28S rDNA nuclear gene were amplified. For the COI we used the universal primers LCO1490 (5' GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') and HCO2198 (5'TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') (Folmer et al. 1994), and the specific primers for Nassariidae 5COIF (5'ACAAATCATAAAGAYATTGGAAC-3'), 492COIR (CGCTCAAATTGTATTCCTCG-3') and 492COIRD (5'CGYTCRAATTGTATYCCTCG-3') (Galindo et al. 2016). For 28S C1' (5'ACCCGCTGAATTTAAGCAT-3') and D2 (5'TCCGTGTTTCAAGACGG-3') were employed (Chisholm et al. 2001). All PCR reactions were performed in 25 µl, containing 3 ng of DNA, 1X reaction buffer, 2.5 mM MgCl₂, 0.26 mM dNTP, 0.3 µM of each primer, 5% DMSO, 5% BSA and 1.5 units of Q-Bio Taq, QBiogene. Thermocycles consisted of an initial denaturation step at 94°C for 4mn, followed by 40 cycles of denaturation at 94°C for 30'', annealing at 48°C for COI gene and 60°C for 28S rDNA gene for 40'' and extension at 72°C for 1mn. The final extension was at 72°C for 5mn. PCR products were purified and sequenced by the Eurofins sequencing facility. Both directions were sequenced to confirm accuracy of each sequence.

Phylogenetic analyses and species delimitation

COI and 28S sequences were cleaned using Codon Code Alignerversion 4.0.4, and automatically aligned using ClustalW implemented in BioEdit version 7.0.5.3 (Larkin et al. 2007). The accuracy of automatic alignments was confirmed by eye. To propose species hypotheses the online version of the Automatic Barcode Gap Discovery method (ABGD;

Puillandre et al. 2012; available at [http:// www.abgd.jussieu.fr/public/abgd/](http://www.abgd.jussieu.fr/public/abgd/)) was used for the COI gene, with default parameters. It automatically detects, when present, a gap in the pairwise distribution of the genetic distances calculated between each pair of specimens. This gap, referred to as the Barcode Gap, is supposed to correspond to a threshold between intra- and inter-specific distances and is used to propose species hypotheses.

The ninety three COI sequences (Table 1), with additional sequences of *Dorsanum miran*, (Buccinoidea, Nassariidae; MNHN-IM-2013-52431), and *Naytia glabrata* (Nassariidae; MNHN-IM-2009-23946) used as outgroups, yielded a 658 bp alignment. For the nuclear dataset, thirty-four 28S sequences were successfully sequenced, for a final alignment of 740 bp (with two sequences of the same outgroups). To test if the species hypotheses proposed by ABGD corresponded to monophyletic groups, a Bayesian phylogenetic tree was built for each gene, consisting of six Markov chains (60,000,000 generations each with a sampling frequency of one tree each hundred generations) run in two parallel analyses using Mr. Bayes version 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). A different model of substitution was applied for each codon position of the COI gene. Parameters of the substitution model were estimated during the analysis (six substitutions, a gamma-distributed rate variation across sites approximated in four discrete categories and a proportion of invariable sites). The chain temperature was set at 0.02. The convergence of each analysis was evaluated using Tracer 1.4.1 (Rambaut & Drummond, 2007). A consensus tree was then calculated after omitting the first 25% trees as burn-in.

RESULTS

Species hypotheses and mitochondrial analysis

In the first morphological analysis, the shells of the 93 specimens were grouped in 11 morphospecies (Fig. 2A: M1 - M11) according to the current taxonomy of the family. Of these, the 30 specimens from the Gulf of Gabès represent the five morphospecies historically recorded from there: M3 is *T. corniculum* (Olivi, 1792); M5 is *T. neritea* (Risso, 1826); M6 is *T. mutabilis* (Linnaeus, 1758); M9 is *T. unifasciata* (Kiener, 1834), and M11 is *T. cuvierii* (Payraudeau, 1826); M10 was not identified to a known species when first examined by a taxonomist. *Tritia gibbosula*, a common Mediterranean species known to occur in the Gulf of Gabès, was not found during our survey.

In a second step, the COI sequences were analyzed. The histogram representing the COI genetic distances between all sequences shows that the distribution pattern of genetic distance among specimens has a bimodal distribution and displays two groups separated by a gap

(Figure 2B). In the vicinity of the barcode gap found in the pairwise genetic distribution, ABGD provided consistent partitions of species hypotheses, whatever the prior intraspecific divergence used. The more inclusive partition included 15 groups (Figure 2A: G1 - G15), all except G9 (PP= 0.89) forming a highly supported monophyletic group (PP= 1) in the Bayesian tree, and the less inclusive 19. The additional groups in the less inclusive partition corresponded to a single specimen each with a sequence slightly divergent from the most closely related ABGD group (result not shown).

Five morphological groups (M1, M4, M5, M7 and M8) are congruent with the mitochondrial data: each corresponds to only one ABGD group (respectively G1, G6, G7, G10 and G11) and vice versa. Two monophyletic COI lineages (G12a and G12b) are recognized as a single ABGD group, but correspond to two different morphological groups (M9 and M10). Conversely, four generic groups (G2 - G3, G4 - G5, G8 - G9, and G13 - G14 - G15) each correspond to a single morphological group (respectively M2, M3, M6, and M11). Consequently, a second examination of the shells was performed in order to eventually detect distinctive features agreeing with the COI-based groups. This analysis resulted in the recognition of 5 morphological groups (m3a, m3b, m11a, m11b, m11c) corresponding to the genetic groups G4, G5, G13, G14, G15, respectively. However, no significant morphological differences were detected among M2 (corresponding to G2 and G3) and M6 (corresponding to G8 and G9).

Nuclear dataset

Several specimens of each group defined with the COI gene were selected for sequencing the 28S gene. Among them, 31 specimens were successfully sequenced. Out of the 10 groups sequenced for both genes, 8 were found identical (i.e. specimens grouped together with the COI gene also clustered together with the 28S gene - Figure 2C). However, specimens of the G14 and G15 groups were mixed together with the 28S gene. Even if not recognized as different species hypotheses by ABGD, the 28S gene segregates the two groups G12a and G12b from among the COI G12 group. Five COI groups were not successfully sequenced for 28S.

Secondary species hypotheses

Combining the two molecular data sets, the morphological and geographical data, we ended up with 14 genetically and morphologically distinct species hypotheses (Figure 2), of which 7 contain specimens from the Gulf of Gabès.

The COI groups G4 (Gulf of Gabès) and G5 (Gulf of Gabès and Bizerte) contain specimens collected sympatrically, and occasionally syntopically and, because there are morphologically separable, we conclude that they represent two species. Group G7 contains specimens from both the Gulf of Gabès and outside (France); these populations are not morphologically or genetically separable. Although recognized with both COI (with a genetic distance $< 2\%$) and 28S genes, there is no morphological difference between specimens of groups G8 (Gulf of Gabès) and G9 (France), and we decided to treat them as one species, pending a more comprehensive dataset. On the contrary, the sympatric m9/G12a and m10/G12b (both Gulf of Gabès), although not robustly supported by ABGD, are separable based on 28S and are also clearly morphologically recognizable. Finally, G13 (Gulf of Gabès), G14 and G15 (Strait of Gibraltar and Canaries) are sister groups separated by large COI genetic distances [10% between G13 and (G14 and G15) and $> 7\%$ between G14 and G15] and are morphologically distinct. The taxonomic status of G14 and G15, which are not monophyletic with the 28S gene (Fig. 2B), is unclear, but G13, which is supported by both COI and 28S, appears to be a Gulf of Gabès endemic.

To summarize, of the seven groups recognized by the integrative approach, 4 contain only specimens from the Gulf of Gabès and can be considered endemic, and 3 contain both specimens from the Gulf and specimens from outside the Gulf.

DISCUSSION: ATTRIBUTING NAMES TO SPECIES HYPOTHESES

***Tritia mutabilis* (G8 - G9): isolation by distance or discrete speciation event?**

The nuclear and mitochondrial genes consistently divided into two distant genetic clades the specimens from France (G9) and the Gulf of Gabès (G8) attributable to *Tritia mutabilis*. However, as we did not detect morphological differences between them (except perhaps size, the Gulf of Gabès specimens being smaller), we have conservatively chosen to treat the material as one species. *Tritia mutabilis* has a protoconch indicating non-planktotrophic larval development, and one hypothesis is that the apparent genetic distance between the two populations merely reflects geographical distance. Another hypothesis is that a very recent speciation event has taken place, resulting in a very weak morphological distinction that is not yet discriminant. To test these hypotheses, it is essential that a broader geographical sampling is analyzed, including material from geographically intermediate localities (e.g. Spanish coast, Corsica, Sardinia, Sicily, Algeria). Many names have been established for the variation of *Tritia mutabilis* (27 synonyms listed in WoRMS, 2016). In case the Gulf of Gabès populations need to be recognized taxonomically, two names (*Nassa mutabilis* var.

curta Pallary, 1904, and *N. mutabilis* var. *procera* Pallary, 1906) have been established but are nomenclaturally invalid as primary junior homonyms (Table 1).

***Tritia neritea* (G7): an introduced species?**

It is remarkable that *Tritia neritea* (long known as *Cyclope neritea*) was not cited from the southern part of the Gulf of Gabès by any of the authors (Monterosato 1880, Pallary 1904, 1906) who historically documented its molluscan fauna, nor by Bouchet & Warén (unpublished) during an intensive mollusc survey conducted around Djerba in 1982, although Pallary (1919) had cited it from Sfax, in the northern part of the Gulf. Cecalupo et al. (2008) record it from Sidi Mahrès, which is the same locality that we got our specimens from. (Incidentally, Cecalupo et al. credit Monterosato 1880 for citing *Cyclope neritea* from the Gulf of Gabès, but we could not find this record in Monterosato's publication.)

There is a growing body of literature (e.g., Bachelet et al. 2004, Couceiro et al. 2012, Simon-Bouhet et al. 2006) on *Tritia/Cyclope neritea* that has been introduced from the Mediterranean to the French and Spanish Atlantic coasts in the context of aquaculture. Given the absence of historical records in the southern part of the Gulf of Gabès, we suggest that its presence there is most probably also the result of an intra-Mediterranean translocation during the last 30 years.

Cryptic diversity within *Tritia cuvierii* (G12 – G15)

Nassarius cuvierii (now recognized as *Tritia cuvierii*) (Payraudeau, 1826) (Figures 3-14) has long been regarded as a common and variable species with non-planktotrophic larval development occurring throughout the Mediterranean and along the coasts of NW Africa. WoRMS (2016) lists no less than 35 synonyms established at the rank of species or "variety". At times, the names *Nassarius ferussaci* (Payraudeau, 1826) and *N. corrugatus* (Brocchi, 1814) are used to designate this complex. Payraudeau described *Buccinum ferussaci* and *B. cuvierii* on the same page of the same work, and the use of the name *ferussaci* as the valid one simply reflects the fact that it was described first; however, this notion of "page priority" is not recognized in the Code of Nomenclature and the name *cuvierii* has in fact priority over the name *ferussaci* by First Reviser's choice by Kiener (1835: 78). The name *Buccinum corrugatum* Brocchi, 1814, based on a Pliocene fossil from Italy, was treated by Landau et al. (2009) as a senior synonym of *cuvierii*. However, in view of the complexity of the systematics of Mediterranean nassariids revealed by the present work, we consider it premature to

coordinate the names of Recent Mediterranean species with those of Pliocene fossils, and we will not here further discuss Brocchi's *Buccinum corrugatum*.

Templado & Moreno (1995) recognized that, within *N. cuvierii* from the SE coasts of Spain, two forms live syntopically and differ in shell, protoconch, and egg-capsules. Even without molecular characters, Templado & Moreno have treated these two forms as *Nassarius cuvierii* and *N. unifasciatus*. This species pair seems however to be only the tip of the iceberg, as the molecular analysis of material (42 specimens) from the Canaries, the Strait of Gibraltar and the Gulf of Gabès reveals 5 reciprocally monophyletic groups, of which three co-occur in the Gulf of Gabès and are only known from there. Of these, G13 seems to correspond to what Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus (1882) have called *Nassa costulata* var. *tenuicosta*, which we thus treat as a full species. The clade m9 broadly falls into what has been called *Nassa* or *Nassarius unifasciatus*, but corresponds to the form named *lanceolata* by Bucquoy et al. (1882) and that we here treat as a valid species. The third species in this complex (m10; Figures 15-18) appears to be without name and is described as new.

***Tritia corniculum* (G2 - G5): Cryptic diversity in the Gulf of Gabès**

Two molecular groups (G4 and G5) are present in specimens attributable to *T. corniculum*. One of them (G5) includes specimens from outside the Gulf of Gabès (lagoon of Bizerte; Fig. 51-53) as well as specimens from the Gulf itself (Figures 54-58). The latter exhibit a remarkable morphological variation, with strongly costulated specimens (Figures 54-58) which Pallary (1904) described as the subspecies *bedei*. These costulated specimens are not genetically differentiated from smooth specimens, and the name *bedei* refers to a morphological variation without evolutionary significance. The second molecular group (G4) only includes specimens from the Gulf of Gabès, which are barely morphologically distinguishable from G5 and co-occur syntopically with it. Because the type locality of *Buccinum corniculum* Olivi, 1792 is the upper Adriatic, we choose to apply the name *corniculum* to the species also occurring outside the Gulf; it should be noted, however, that this application of the name *corniculum* will need molecular confirmation based on topotypical specimens. As no name other than *bedei* in the synonymy of *T. corniculum* has a Gulf of Gabès type locality, we describe the second species as new (Figures 43-50, 79).

In addition, the COI groups G2 and G3 (28S sequences not available for any of these specimens) are sister to G5 (*corniculum*). They were collected syntopically at two localities a few kilometers apart in the lagoon of Bizerte but, as no morphological difference between them was detected, we decided to recognize them as one species. This species corresponds to

what in the literature has occasionally (e.g., Giannuzzi-Savelli et al. 2003: figures 426a-b) been called *Nassarius* or *Amycla corniculum* var. *elongata* Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882, which we thus treat as a valid species.

SPECIES DESCRIPTIONS

Class Gastropoda, Cuvier, 1795

Subclass Caenogastropoda Cox, 1960

Superfamily Buccinoidea Rafinesque, 1815

Family Nassariidae Iredale, 1916 (1835)

Subfamily Nassariinae Iredale, 1916 (1835)

Genus *Tritia* Risso, 1826

Type species: *Buccinum reticulatum* Linnaeus, 1758, by subsequent designation by Gray (1847).

***Tritia tenuicosta* (Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882) comb. nov.**

Figures 35-42, 77-78

Nassa costulata var. *tenuicosta* Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882: 55, pl. 11 figures 30-32

Synonym: *Nassa ferussaci* ssp. *exigua* Pallary, 1904: 226, pl. 7 figure. 14 (syn. nov.) (invalid name: junior homonym of *Nassa exigua* Hombron & Jacquinot, 1848)

Type data: *N. costulata* var. *tenuicosta* was described based on an unspecified number of specimens. The 3 shells illustrated by B.D.D. are syntypes and are deposited in MNHN; they differ in size and details of teleoconch sculpture. Although B.D.D. gave a size of 12 mm, we have chosen as lectotype the smallest of the three (MNHN IM-2000-31757; Figures 35-36), measuring 8.1 mm, corresponding to their figure 32. B.D.D. stated that their material had been presented to them by a M. Guillou, from among sponges from the coasts of Tunisia, which, in the context of the time, indicates the Gulf of Gabès. The other two syntypes (MNHN IM-2000-31758) become paralectotypes. 135 spms from "Eponges de Gabès", labelled "*Nassa ferussaci* Payr. v. *tenuicostata* (sic) B.D.D. = *exigua* Pallary" in coll. Dautzenberg ex Monterosato 1881 (RBINS) may also have been syntypes, and thus now paralectotypes. *N. ferussaci* ssp. *exigua*: The specimen illustrated by Pallary (Figures 37-38) is here designated as lectotype; no specific locality was given by Pallary, but the "Golfe de Gabès" is indicated in the title of the article.

Basis of application of the name: 6 sequenced specimens from Djerba (MNHNIM-2013-31864, IM-2013-31865, IM-2013-31866, IM-2013-31867, IM-2013-31868, IM-2013-31967). Additional, non-sequenced, material from Djerba (MNHN IM-2013-32050, IM-2013-32121, IM-2013-32051, IM-2013-31935).

Distribution: Known only from Gulf of Gabès, Tunisia.

Description (based on the sequenced specimens)

Shellbucciniform, ovate, slightly glassy; protoconch (Figures 77-78) paucispiral, of 1.5 glassy whorls, teleoconch of 5 convex and tight whorls, sculptured with evenly spaced axial ribs, 15 on the penultimate whorl and 19 on the last whorl, present also all the way to the outer lip; spiral sculpture consisting of 15-17 cords on the body whorl, weaker above periphery and on spire. Aperture narrow-ovate, outer lip forming a double varix, coarsely denticulated inside; columella convex, bearing 2 denticles which can be very weak; parietal callus rather thin, with very weak or without parietal denticle. Siphonal canal short, wide. Siphonal fasciole distinctly raised. Background color beige-cream, occasionally with narrow, light brown spiral bands at suture, periphery and siphonal fasciole. Height 8- 9 mm, exceptionally 12 mm.

Remarks: When describing *Nassa ferussaci* ssp. *exigua*, Pallary (1904: 226) already noticed its similarity with *tenuicosta*.

***T. lanceolata* (Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882) comb. nov.**

Figures 19-34, 74-76

Nassa costulata var. *lanceolata* Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882: 55, pl. 11 figure 34

Nassa costulata var. *turgida* Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882: 55, pl. 11 figure 33 (syn. nov.)

Nassa ferussaci ssp. *arcuata* Pallary, 1904: 226, pl. 7 figure. 10 (syn. nov.)

Nassa ferussaci var. *claudoni* Pallary, 1906: 84, pl. 4 figure. 4 (syn. nov.)

Type data: B.D.D. described *N. costulata* var. *lanceolata* based on an unspecified number of specimens presented to them by a M. Guillou, from among sponges from the coasts of Tunisia, which, in the context of the time, indicates the Gulf of Gabès. The shell illustrated on their fig. 34 is here selected as lectotype (MNHN IM-2000-31755; Figures 27-28). Twenty-two spms from "golfe de Gabès" ex Guillou, labelled "*Nassa costulata* Ren. var. *lanceolata* B.D.D." in coll. Dautzenberg (RBINS) are probably syntypes and become paralectotypes; 22 other spms from Sfax, labelled "*Nassa ferussaci* Payr. v. *lanceolata* B.D.D. = *arcuata* Pallary mss, Bédé leg." in coll. Dautzenberg (RBINS) are not considered syntypes. *Nassa costulata* var. *turgida* was described by the same authors from the same source (sponges from the

coasts of Tunisia ex Guillou), also based on unspecified number of specimens; we here select the specimen illustrated by B.D.D. as lectotype (Figures 19-20). *Nassa ferussaci* ssp. *arcuata* was described by Pallary on an unspecified number of specimens from Sfax; the illustrated specimen (MNHN IM-2000-6719; Figures 23-24) may have been the holotype, however to avoid inferring the existence of a holotype this specimen is here selected as lectotype. *Nassa ferussaci* var. *claudoni* was described on an unspecified number of specimens from Ajim and El Kantara, both on the island of Djerba. There is no material in MNHN or RBINS that can be considered type. We have examined one historical specimen in the Dautzenberg collection (Sfax, ex Bédé; Figures 25-26) that matches well both Pallary's figure [but differs by a smaller size (15 vs 18 mm)] and one of the sequenced specimens (MNHN IM-2013-31962; 16 mm; Figures 31-32) and, to stabilize the application of the name, the latter specimen is herein designated as the neotype of *Nassa ferussaci* var. *claudoni*. *Nassa ferussaci pallaryi* was described from Sfax; no type material was localized either in MNHN or RBINS, but the figure shows a very slender specimen with tightly coiled whorls that overall resembles our slender sequenced specimen of *T. lanceolata*, hence our tentative synonymy with *T. lanceolata*.

Basis of application of the name: 2 sequenced specimens from Djerba, Tunisia (MNHN IM-2013-32028, IM-2013-31962).

Distribution: Known only from Gulf of Gabès, Tunisia.

Description (based on the sequenced specimens)

Shell bucciniform, high spired; protoconch of sequenced specimens eroded or broken, in paralectotype paucispiral, of 1.5 whorls; teleoconch of 6 whorls, suture deeply impressed and ledged; axial sculpture of evenly spaced ribs separated by narrow interspaces, 14-18 on the penultimate whorl and 15-22 on the last whorl, the last ones closely set behind the outer lip; spiral sculpture consisting of fine cords, 11-13 on the penultimate and 19-20 on the last whorl. Aperture ovate; outer lip thickened, forming a terminal varix, bearing 15 fine teeth inside; columella convex, plicate, columellar callus smooth, narrow, tightly adpressed to last whorl, not marginated, with 0-2 small columellar tubercles and very weak denticle. Siphonal canal very short, broad. Siphonal fasciole short and rounded. Background color, including axial ribs, creamy, with reddish brown lines at suture and periphery of last whorl, and olive brown and white blotches below the suture. Aperture white. Height 15-16 mm.

Remarks: *Tritia lanceolata* is a variable species, both in terms of height/width ratio and number of ribs. Our two sequenced specimens are representative of this variation, with one slender, high-spired specimen with closely axial sculpture, and one broad, low spired

specimen with broadly spaced axial ribs. These two sequenced specimens, both with a broken spire tip, have however a similar colour pattern that places them in the *cuvierii* group. The names *lanceolata*, *turgida*, *arcuata* and *claudoni* also refer to specimens that differ in spire height and axial ribbing, but have in common a paucispiral mucronate protoconch with very convex whorls, which distinguishes them from the paucispiral dome-shaped protoconch of *T. tenuicosta*.

***Tritia djerbaensis* sp. nov.**

Figures 15-18, 80

Type material: holotype MNHN IM-2013-32652 and one paratype MNHN IM-2013-32653, both sequenced specimens.

Type locality: Midoun [also known as Djerba La Fidèle], Gulf of Gabès, Tunisia, 33°49'42"N, 10°59'0"E.

Basis of application of the name: The sequenced material.

Distribution: Known only from Gulf of Gabès, Tunisia.

Description (holotype)

Shell broad, bucciniform; protoconch paucispiral of 1.5 whorls; teleoconch of 5 whorls, sculptured with broad ribs separated by broad and deep interspaces, 14 on the penultimate, and 11 on the last whorl; spiral sculpture indistinct, obsolete on the penultimate and body whorls except 5 incised cords on the base of shell; suture deeply impressed and ledged. Aperture ovate, outer lip thickened but not variced, with 12 rather strong teeth inside; columella convex; columellar callus smooth, marginated and narrow, with an indistinct anterior pustule and one strong denticle delimiting the distinctly constricted anal canal. Siphonal canal short, wide. Siphonal fasciole short and rounded. Background light orange-brown with a lighter broad band occupying the periphery of last whorl, axial ribs lighter, interspaces between ribs mottled with darker brown speckles. Aperture creamy white. Height 13.0 mm.

Etymology: Named after the island of Djerba, in the southern part of the Gulf of Gabès, the type locality.

Remarks: *Tritia djerbaensis* sp. nov. superficially resembles the Gulf of Gabès form of *T. corniculum* named *bedei* by Pallary (1904) (a name that refers to a morphological variation without evolutionary significance, see above). *Tritia djerbaensis*, however, can be separated by its more convex whorls, with deeper and channeled suture, and more numerous, broad axial ribs, and the more globose last teleoconch whorl.

***Tritia pallaryana* sp. nov.**

Figures 43-49, 77

Type material: holotype, MNHN IM-2009-30941 from the type locality; 3 paratypes MNHN IM-2013-31770, IM-2013-31769, IM-2013-31771 from Borj Jillij (33°53'14.1"N 10°44'31.8"E), depth 0-1 m, Djerba.

Type locality: Borj Elhissar (34°43'51.6"N 11°10'12.3"E), depth 0-1 m, Kerkennah Island, Gulf of Gabès, Tunisia.

Distribution: Known only from Gulf of Gabès, Tunisia.

Basis of application of the name: The type material and two additional, non-sequenced specimens from Borj Elhissar, Kerkennah Island. (MNHN IM-2009-30939, IM-2009-30940).

Description (holotype)

Shell solid, bucciniform and ovate; protoconch paucispiral, rather corroded, consisting of 1.5 whorls; teleoconch of 5 convex, rather polished whorls, suture deep; traces of axial sculpture on early whorls, antepenultimate and penultimate whorls smooth, last whorl with 5 low, broad, indistinct ribs, last part of the whorl behind peristome smooth. No spiral sculpture except 7 cords on the base and fasciole. Aperture ovate, outer lip moderately thickened without terminal varix, bearing 11 rather strong teeth inside; columella convex, plicate; columellar callus smooth, margined and narrow, bearing one indistinct anterior pustule and a strong parietal denticle; anal canal distinctly constricted. Siphonal canal short, broad. Siphonal fasciole short and rounded. Background colour creamy light brown with faint spiral bands of alternating lighter and darker speckles, a little more distinct below periphery of last whorl; inside of aperture and columellar callus very light purple, interspaces between outer lip denticles darker. Height 12.5 mm.

Juvenile paratypes have a bulbous, shiny protoconch; teleoconch with a sculpture of distinct axial ribs, opisthocline on first whorl, prosocline on second whorl, and thereafter becoming obsolete.

Remarks: *Tritia pallaryana* strongly resembles the "classical" smooth specimens of *Tritia corniculum* from the North of Tunisia (Figures 51-53) and other Mediterranean localities (Giannuzzi-Savelli et al. 2003, Gofas et al. 2011), and would undoubtedly be identified as *corniculum* based on shell characters only. However, the molecular data show that the Gulf of Gabès specimens that cluster with *corniculum* are always costulated and at first look specifically different from *corniculum*. This may be a case of character displacement: where the two species of the *T. corniculum* complex co-occur, they are in fact unmistakably different. As stated above, these costulated specimens correspond to the name *bedei*, which

refers to a morphological variation without taxonomic significance that also occurs outside the Gulf of Gabès (Andalucia, Spain: Gofas et al. 2011: 303, top left figure).

Etymology: This new *Tritia* is named after Paul Pallary, historically the principal author on the molluscs of the Gulf of Gabès, and the one who definitely recognized its unique composition. Because there is already a *Nassa ferussaci pallaryi* Koch, 1906, we have chosen to form a Latin adjective based on Pallary's surname.

***Tritia elongata* (Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882) comb. nov.**

Figures 59-73

Amycla corniculum var. *elongata* Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882: 57, pl. 12 figures 7-9, 12

Type data: *Amycla corniculum* var. *elongata* was described based on an unspecified number of specimens. The 4 shells illustrated by B.D.D. are syntypes and are deposited in MNHN; they come from "Roussillon", i.e. the French Mediterranean coast of the Pyrenees. The specimen illustrated in figure 8 is here designated as lectotype (MNHN IM-2000-31758). The other three syntypes become paralectotypes (MNHN IM-2000-31802, IM-2000-31804, IM-2000-31805). 46 specimens from Roussillon in coll. Dautzenberg (RBINS) were also probably syntypes, and would now be paralectotypes.

Basis of application of the name: 8 sequenced specimens from Errimel, Bizerte lagoon (MNHN IM-2013-32571, IM-2013-32197, IM-2013-32198, IM-2013-32563, IM-2013-32399, IM-2013-32594, IM-2013-32551, IM-2013-32570); 5 not sequenced specimens from two other localities in Bizerte lagoon: Menzil Jmil and Menzil Abderrahmen (MNHN IM-2013-32453, IM-2013-32568, IM-2013-32476, IM-2013-32472, IM-2013-32200).

Distribution: *Tritia elongata* is rather characteristic and, even in the absence of molecular data, it is morphologically recognizable from among specimens from Corsica, Sicily and Andalucia illustrated by Giannuzzi-Savelli et al. (2003: figures 426b-d) and Gofas et al. (2011: 303, bottom specimen), and may have a broad distribution at least in the western basin.

Description (based on sequenced specimens)

Shell bucciniform, elongate-ovate, glossy; protoconch paucispiral, of 1.5 whorls; teleoconch of 5 slightly convex whorls, suture shallow, weakly ledged; weak axial ribs on first 2 whorls, subsequent whorls smooth; no spiral sculpture except 3-4 spiral grooves at the base of shell. Aperture ovate, outer lip weakly thickened and expanded, not forming a varix, bearing 9-10 rather strong teeth inside; columella convex, smooth, plicate; columellar callus smooth, margined and narrow, bearing one indistinct anterior pustule and a weakly developed

parietal denticle. Siphonal canal short, wide. Siphonal fasciole short and rounded. Background colour violet-grey with a light band on the periphery of last whorl, and 12-15 spiral lines of alternating brown and white spots, one of which subdivides the light band on periphery, suture bordered abapically by spirally elongated white blotches. Aperture violet-grey inside, with light band of periphery showing through, apertural rim lighter. Height 11- 13 mm.

Remarks: The combination of the colour pattern and high spire may help distinguish *T. elongata* from *T. corniculum* and *T. pallaryana*. *Tritia lanceolata*, which had until now been treated as a variant of *T. corniculum*, is syntopic in the lagune of Bizerte, clearly indicating their specific rank. The type locality of *Tritia corniculum* (as *Buccinum corniculum*) is the lagune of Venice, i.e. a paralic habitat in the eastern Mediterranean basin, and its molecular identity still has to be evaluated. It is possible that, among the many names currently considered synonyms of *Buccinum corniculum* (26 synonyms listed in WoRMS), some may in fact apply to *Tritia elongata* and may be nomenclaturally older, but their critical evaluation falls beyond the scope of the present paper.

CONCLUSION

Beside *Tritia gibbosula* (Linnaeus, 1758) (that was not sampled by us), the species of Nassariidae from the Gulf of Gabès are *Tritia neritea* (Linnaeus, 1758) [probably introduced], *T. mutabilis* (Linnaeus, 1758), *T. corniculum* (Olivi, 1792), *T. lanceolata* (Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882), *T. tenuicosta* (Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882), *T. pallaryana* n. sp., and *T. djerbaensis* n. sp. The last four, which were not previously recognized as valid species, may be considered Gulf of Gabès endemics. It is remarkable that all have paucispiral protoconchs indicating non-planktotrophic larval development.

In his second paper on the molluscs from the Gulf of Gabès, Pallary (1906) raved on the local variation of "*Nassa ferussaci*" [today the *Tritia cuvierii* complex]: «The *N. ferussaci* group offers on the eastern coasts of Tunisia a very remarkable case of polymorphism. One could easily establish twenty species or varieties based on the derivations of that species alone. [...] This group of *Nassa* thus offers to evolutionists much matter for speculation». One hundred years later, the present research has confirmed Paul Pallary's intuitions that indeed the Gulf of Gabès is a "speciation factory" (Sabelli 1981).

More importantly, the present research shows that the recognition of species with pan-Mediterranean, or even pan-European, distributions is an oversimplification of complex biogeographic and evolutionary patterns. At the geographical scale, the Aegean Sea - in particular the North Aegean - the Gulf of Iskendrun, and the Adriatic may also have been

speciation factories for non-planktotrophic nassariids, as also shown by *Tritia lousi* (Pallary, 1912); at the ecological scale, lagunes and other paralic habitats also act as isolation mechanisms leading to speciation, as shown by *T. tinei* (Maravigna, 1840). The combination of a complex coastline and complex Quaternary climatic history demand a necessary revision of the systematics of marine snails of the Mediterranean far beyond the Gulf of Gabès. Ironically, after more than 200 years of conchology, the bottleneck for this reappraisal is access to live-collected, molecular grade material, just as anywhere else in the world.

REFERENCES

- Aartsen JJ van, Menkhorst HP, Gittenberger E. 1984. The marine Mollusca of the Bay of Algeciras Spain with general notes on Mitrella, Marginellidae and Turridae. Basteria Supplement No, 2:1-135.
- Alf A, Haszprunar G. 2016. Mittelmeer-Mollusken. Prosobranchia & Bivalvia. Harxheim: Conchbooks. 416 pages.
- Amati B, Oliverio M. 1987. *Alvania datchaensis* sp. n. (Gastropoda). Notiziario del C.I.S.MA 9 (10): 46-53.
- Bachelet G, Simon-Bouhet B, Desclaux C, Garcia-Meunier P, Mairesse G, Montaudouin X, Raigné H, Randriambao K, Guy Sauriau P, Viard F. 2004. Invasion of the eastern Bay of Biscay by the nassariid gastropod *Cyclope neritea*: origin and effects on resident fauna. Marine Ecology Progress Series, 276: 147-159.
- Barco A, Houart R, Bonomolo G, Crocetta F, Oliverio M. 2013. Molecular data reveal cryptic lineages within the northeastern Atlantic and Mediterranean small mussel drills of the *Ocenebrina edwardsii* complex (Mollusca: Gastropoda: Muricidae). Zoological Journal of the Linnean Society 169 (2): 389-407.
- Bucquoy E, Dautzenberg P, Dollfus G. 1882-1886. Les mollusques marins du Roussillon. Tome Ier. Gastropodes: Paris, JB. Baillière & fils. 570 p., 66 pl. [pp. 1-40, pl. 1-5, February 1882; pp. 41-84, pl. 6-10, August 1882; pp. 85-135, pl. 11-15, February 1883; pp. 136-196, pl. 16-20, August 1883; pp. 197-222, pl. 21-25, January 1884; pp. 223-258, pl. 26-30, February 1884; pp. 259-298, pl. 31-35, August 1884; pp. 299-342, pl. 36-40, September 1884; p. 343-386, pl. 41-45, February 1885; p. 387-418, pl. 46-50, August 1885; pp. 419-454, pl. 51-60, January 1886; p. 455-486, pl. 56-60, April 1886; p. 487-570, pl. 61-66, October 1886].

- Bucquoy E, Dautzenberg P, Dollfus G. 1887-1898. Les mollusques marins du Roussillon. Tome II. Pélécypodes : Paris, JB. Baillière & fils 884 p., 99 pl. [pp. 1-24, pl. 1-6, november 1887; pp. 25-60, pl. 7-11, august 1888; pp. 61-112, pl. 12-21, may 1889; pp. 113-172, pl. 22-29, april 1890; pp. 173-220, pl. 30-37, april 1891; pp. 221-272, pl. 38-44, april 1892; pp. 273-320, pl. 45-51, may 1892; pp. 321-388, pl. 52-59, november 1893; pp. 389-450, pl. 60-67, december 1893; pp. 453-540, pl. 68-70, march 1895; pp. 541-620, pl. 79-88, april 1896; p. 621-690, pl. 89-95, march 1898; p. 693-884, pl. 96-99, october 1898]
- Cachia C, Mifsud C, Sammut PM. 2001. The marine Mollusca of the Maltese Islands. Part III Sub-class Prosobranchia to Sub-class Pulmonata, order Basommatophora: Backhuys Publishers, Leiden. 259 pages.
- Calvo M, Templado J, Oliverio M, Machordom A. 2009. Hidden Mediterranean biodiversity: molecular evidence for a cryptic species complex within the reef building gastropod *Dendropoma petraeum* (Mollusca: Caenogastropoda). *Biological Journal of the Linnean Society* 96: 898–912.
- Calvo M, Alda F, Templado J, Oliverio M, Machordom A. 2015. Surviving the Messinian salinity crisis? Divergence patterns in the genus *Dendropoma* (Gastropoda: Vermetidae) in the Mediterranean Sea. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 91: 17-26.
- Chisholm LA, Morgan JA, Adlard RD, Whittington ID. 2001. Phylogenetic analysis of the Monocotylidae (Monogenea) inferred from 28S rDNA sequences. *International Journal for Parasitology* 31: 1537-1547.
- Cecalupo A, Buzzurro G, Mariani M. 2008. Contributo alla conoscenza della malacofauna del Golfo di Gabès (Tunisia). *Civica Stazione Idrobiologica di Milano*. 31: 1-175 pages.
- Cernohorsky WO. 1984. Systematics of the family Nassariidae (Mollusca: Gastropoda). *Bulletin of the Auckland Institut and Museum* 14: 1-356.
- Couceiro L, Lopez L, Sotka EE, Ruiz JM, Barreiro R. 2012. Population structure and range expansion: the case of the invasive gastropod *Cyclope neritea* in northwest Iberian Peninsula. *Integrative Zoology* 7: 286-298.
- Curini Galletti M. 1982. Note ai Trochidae, V. *Jujubinus tumidulus* (Aradas, 1846) (Mollusca, Gastropoda). *Naturalista Siciliano, ser. 4*, 6 (3-4): 67-80.
- Dautzenberg P. 1883. Liste de coquilles du Golfe de Gabès. *Journal de Conchyliologie* 31: 289-330.
- Delemarre JL. 2002. Un chiton identifié. *Xenophora* 99: 13.

- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R. 1994. DNA primers for 779 amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse 780 metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294-299.
- Galindo LA, Puillandre N, Utge J, Lozouet P, Bouchet P. 2016. The phylogeny and systematics of the Nassariidae revisited (Gastropoda, Buccinoidea). *Molecular Phylogenetic and Evolution* 10.1016/j.ympev.2016.03.019
- Gofas S (1998) Marine molluscs with a very restricted range in the Strait of Gibraltar. *Diversity and Distributions* 4: 255-266.
- Gofas S, Moreno D, Salas C. 2011. *Moluscos marinos de Andalucía, Vol. I: Universidad de Málaga, Málaga. 342 pages.*
- Ghisotti F. 1972. Le conchiglie del Golfo di Gabes. *Conchiglie* 8 : 63-89.
- Giannuzzi Savelli R, Pusateri F, Palmieri A, Ebreo C. 2003. *Atlante delle conchiglie marine del Mediterraneo. Vol. 4 parte prima (Neogastropoda: Muricoidea). Edizioni Evolver, Roma. 246 pages.*
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, Gibson TJ, Higgins DG. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23: 2947-2948.
- Landau B, Marques da Silva C, Gill C. 2009. The early Pliocene Gastropoda (Mollusca) of Estepona, southern Spain. Part 8: Nassariidae. *Palaeontos* 17: 1-101, 22 pls.
- Maravigna C. 1840. G Buccin. *Buccinum*. Lamarck. B. de Tineo. *B. Tinei*. Maravigna. *Magasin de Zoologie, d'Anatomie Comparée et de Palaeontologie* (2)2: pl. 24.
- Monterosato TA. 1880 Notizie intorno ad alcune conchiglie delle coste d'Africa. *Bullettino della Società Malacologica Italiana* 5: 213-233.
- Oberling JJ. 1970. Quelques espèces nouvelles de gastropodes du bassin méditerranéen. *Kleine Mitteilungen, Naturhistorisches Museum Bern* 1: 1-7.
- Pallary P. 1900. Coquilles marines du littoral du département d'Oran. *Journal de Conchyliologie* 48(3): 211-422.
- Pallary P. 1904. Addition à la faune malacologique du Golfe de Gabès. *Journal de Conchyliologie* 52: 212-248.
- Pallary P. 1906. Addition à la faune malacologique du Golfe de Gabès (2è article). *Journal de Conchyliologie* 54: 77-124.
- Pallary P. 1919. Le *Cyclonassa neritea* Linné et ses dérivations. *Journal de Conchyliologie*, 64: 1-11, pl. 1.
- Payraudeau BC. 1826. *Catalogue descriptif et méthodique des Annelides et des Mollusques de l'île de Corse.* Paris, 218 pages, 8 pls.

- Pelorce J. 2007. Les mollusques marins du Golfe d'Aigues Mortes et de la Camargue. Bulletin de la Société d'Etudes des Sciences Naturelles de Nîmes et du Gard 66: 39-53.
- Puillandre N, Lambert A, Brouillet S, Achaz G. 2012. ABGD automatic barcode gap discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology* 21: 1864-1877.
- Rambaut A, Drummond AJ. 2007. Tracer v1.4. <<http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>>.
- Rolan E, Luque AA. 1995. *Nassarius reticulatus* (Linnaeus, 1758) y *Nassarius nitidus* (Jeffreys, 1867) (Gastropoda, Nassariidae), dos especies validas de los mares de Europa. *Iberus*, 12: 59-76.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Sabelli B, Taviani M. 1981. Réflexions sur les endémiques (mollusques marins) du Golfe de Gabès. Journées d'Etudes sur systématique évolutive et la biogéographie en Méditerranée, 149-150.
- Sabelli B, Taviani M. 2015. The making of the Mediterranean molluscan biodiversity. In: Goffredo S, Dubinsky Z (editors), *The Mediterranean Sea: its history and present challenges*: 285-306. Springer.
- Sá-Pinto A, Branco M, Sayanda D, Alexandrino P. 2008. Patterns of colonization, evolution and gene flow in species of the genus *Patella* in the Macaronesian Islands. *Molecular Ecology* 17: 519-532.
- Simon-Bouhet B, Garcia-Meunier P, Viard F. 2006. Multiple introductions promote range expansion of the mollusk *Cyclope neritea* (Nassariidae) in France: evidence from mitochondrial sequence data. *Molecular Ecology* 15: 1699–1711
- Soppelsa O, Crocetta F, Fasulo G. 2007. I molluschi marini di Punta di Pioppeto (Isola di Procida- Campania). *Bollettino Malacologico* 43 (1-8): 21-32.
- Templado M, Moreno D. 1995. The species complex "*Nassarius cuvierii* - *N. unifasciatus*" (Gastropoda, Nassariidae) in the SE of Spain. *Iberus* 12(2): 33-47.
- WoRMS. 2016. World Register of Marine Organisms <http://www.marinespecies.org/>. Consulted 5 May 2016.

Table 1. Nominal taxa of Nassariidae historically recorded from the Gulf of Gabès.

Name	Source	Type locality in Gulf of Gabès	Current taxonomic status
<i>Nassa costulata</i> var. <i>lanceolata</i> Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882	B.D.D. 1882	Yes	Synonym of <i>N. cuvierii</i> (Payraudeau, 1826) [Cernohorsky 1984] <i>N. unifasciatus</i> (Kiener, 1834) var. <i>lanceolata</i> [Cecalupo et al. 2008]
<i>Nassa costulata</i> var. <i>pulcherrima</i> Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882	B.D.D. 1882	Yes	Synonym of <i>N. cuvierii</i> (Payraudeau, 1826) [Cernohorsky 1984] Synonym of <i>N. unifasciatus</i> var. <i>lanceolata</i> [Cecalupo et al. 2008] Junior homonym of <i>Nassa pulcherrima</i> Marrat, 1877
<i>Nassa costulata</i> var. <i>tenuicosta</i> Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882	B.D.D. 1882	Yes	Synonym of <i>N. cuvierii</i> [Cernohorsky 1984]
<i>Nassa costulata</i> var. <i>turgida</i> Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882	B.D.D. 1882	Yes	Synonym of <i>N. cuvierii</i> [Cernohorsky 1984]
<i>Nassa ferussaci</i> ssp. <i>arcuata</i> Pallary, 1904	Pallary 1904	Yes	Variety of <i>N. unifasciatus</i> [Cecalupo et al. 2008]
<i>Nassa ferussaci</i> ssp. <i>exigua</i> Pallary, 1904	Pallary 1904	Yes	Synonym of <i>N. costulatus</i> [Cecalupo et al. 2008] Junior homonym of <i>Nassa exigua</i> Hombron & Jacquinot, 1848
<i>Nassa ferussaci</i> var. <i>claudoni</i> Pallary, 1906	Pallary 1906	Yes	<i>Nassarius unifasciatus</i> var. <i>claudoni</i> [Cecalupo et al. 2008]
<i>Nassa ferussacipallaryi</i> Koch, 1906	Pallary 1906	Yes	Synonym of <i>N. unifasciatus</i> var. <i>lanceolata</i> (BDD, 1882) [Cecalupo et al. 2008]
<i>Nassarius unifasciatus</i> (Kiener, 1834)	Cecalupo et al. 2008	No	<i>Nassarius unifasciatus</i> (Kiener, 1834)
<i>Nassarius costulatus</i> (Brocchi, 1814)	Cecalupo et al. 2008	No	<i>Nassarius cuvierii</i> (Payraudeau, 1826) [WoRMS]
<i>Nassa mutabilis</i> (Linnaeus, 1758)	Pallary 1904, Cecalupo et al. 2008	No	<i>Nassarius mutabilis</i> (Linnaeus, 1758)
<i>Nassa mutabilis</i> var. <i>minuscule</i> Pallary, 1900	Pallary 1904	No	<i>Nassarius mutabilis</i> (Linnaeus, 1758)
<i>Nassa mutabilis</i> var. <i>curta</i> Pallary, 1904	Pallary 1904	Yes	<i>Nassarius mutabilis</i> (Linnaeus, 1758) [WoRMS] Junior homonym of <i>Nassa curta</i> Gould, 1850
<i>Nassa mutabilis</i> var. <i>procera</i> Pallary, 1906	Pallary 1906	Yes	<i>Nassarius mutabilis</i> (Linnaeus, 1758) Junior homonym of <i>Nassa procera</i> Meyer, 1873
<i>Nassarius corniculum</i> (Olivi, 1792)	Cecalupo et al. 2008	No	<i>Nassarius corniculum</i> (Olivi, 1792)
<i>Amycla corniculum</i> ssp. <i>bedei</i> Pallary, 1904	Pallary 1904	Yes	<i>Nassarius costulatus</i> var. <i>bedei</i> [Cecalupo et al. 2008]
<i>Amycla corniculum bedei</i> var. <i>laevigata</i> Pallary, 1906	Pallary 1906	Yes	Unavailable name [infrasubspecific]

<i>Amycla corniculum bedei</i> var. <i>striolata</i> Pallary, 1906	Pallary 1906	Yes	Unavailable name [infrasubspecific]
<i>Amycla corniculum bedei</i> var. <i>elongata</i> Pallary, 1904	Pallary 1904	Yes	Unavailable name [infrasubspecific]
<i>Amycla corniculum bedei</i> var. <i>aurata</i> Pallary, 1906	Pallary 1906	Yes	Unavailable name [infrasubspecific]
<i>Nassarius pygmaeus</i> (Lamarck, 1822) [or perhaps <i>N. incrassatus</i> (Strøm, 1768)?]	Deleamarre et al. 2002	No	Gulf of Gabès occurrences doubtful
<i>Nassarius incrassatus</i> (Strøm, 1768)	Monterosato 1880 Dautzenberg 1883	No	<i>Nassarius incrassatus</i> (Strøm, 1768) Gulf of Gabès occurrences doubtful (not subsequently recorded)
<i>Cyclope neritea</i> Risso, 1826	Monterosato 1880 Cecalupo et al. 2008	No	<i>Cyclope neritea</i> Risso, 1826
<i>Nassarius gibbosulus</i> (Linnaeus, 1758)	Dautzenberg 1883 Pallary 1906, Cecalupo et al. 2008	No	<i>Nassarius gibbosulus</i> (Linnaeus, 1758)

Table 2. List of the examined material of *Tritia* used in the present study.

Species	Locality, geographic coordinates	MNHN collection number	GenBank accession numbers	
			COI	28S
<i>Tritia incrassata</i>	Tunisia, Bizerte, Menzel Jmil, 37°13'36.8"N 9°53'38.8"E	IM-2013-32318	AAXXXXXX	AAXXXXXX
<i>Tritia incrassata</i>	Canaries, Tenerife, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4' W	IM-2009-22380	AAXXXXXX	AAXXXXXX
<i>Tritia incrassata</i>	Canaries, Gran Canaria, 27°42'54.8"N 15°25'52.7' W	IM-2009-24031	AAXXXXXX	-----
<i>Tritia incrassata</i>	Portugal, Algarve, 37°29'44.807"N 9°37'21.212"W	IM-2009-24029	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia incrassata</i>	Canaries, Gran Canaria, 27°42'54.8"N 15°25'52.7' W	IM-2009-22373	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia incrassata</i>	Spain, Malaga, 36°27'44.1"N, 4°43'002.8"W	IM-2009-9497	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia cornicula</i>	Tunisia, Djerba, Borj Djillij, 33°53'14.1"N 10°44'31.8"E	IM-2009-30697	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cornicula</i>	Tunisia, Djerba, Borj Djillij, 33°53'14.1"N 10°44'31.8"E	IM-2013-31770	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia elongata</i>	Tunisia, Bizerte, Errimel, 37°15'39.3"N 9°54'06.5"E	IM-2013-32399	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia elongata</i>	Tunisia, Bizerte, Errimel, 37°15'39.3"N 9°54'06.5"E	IM-2013-32594	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia elongata</i>	Tunisia, Bizerte, Menzel Jmil, 37°13'36.8"N 9°53'38.8"E	IM-2013-32198	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia elongata</i>	Tunisia, Bizerte, Menzel Jmil, 37°13'36.8"N 9°53'38.8"E	IM-2013-32197	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia elongata</i>	Tunisia, Bizerte, Errimel, 37°15'39.3"N 9°54'06.5"E	IM-2013-32563	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia elongata</i>	Tunisia, Bizerte, Errimel, 37°15'39.3"N 9°54'06.5"E	IM-2013-32551	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia elongata</i>	Tunisia, Bizerte, Errimel, 37°15'39.3"N 9°54'06.5"E	IM-2013-32570	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia elongata</i>	Tunisia, Bizerte, Errimel, 37°15'39.3"N 9°54'06.5"E	IM-2013-32571	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia pellucida</i>	Spain, Calahonda, Malaga, 36°27'44.1"N, 4°43'002.8"W	IM-2009-5374	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia neritea</i>	France	Genbank	GQ265781.1	-----
<i>Tritia neritea</i>	France	Genbank	AY789970.1	-----
<i>Tritia neritea</i>	Tunisia, Djerba, Plage Sidi Mehrez, 33°50'47.6"N 10°59'57.0"E	IM-2009-30507	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia neritea</i>	Tunisia, Djerba, Plage Sidi Mehrez, 33°50'47.6"N 10°59'57.0"E	IM-2009-30508	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia mutabilis</i>	Tunisia, Djerba, Borj Djillij, 33°53'14.1"N 10°44'31.8"E	IM-2009-30734	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia mutabilis</i>	Tunisia, Djerba, Sidi Jmour, 33°49'53.9"N 10°44'51.5"E	IM-2013-31870	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia mutabilis</i>	Tunisia, Djerba, Sidi Youssef, 34°42.630'N, 11°09.124'E	IM-2009-30967	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia mutabilis</i>	Tunisia, Djerba, Sidi Jmour, 33°49'53.9"N 10°44'51.5"E	IM-2013-31871	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia mutabilis</i>	Tunisia, Djerba, Sidi Jmour, 33°49'53.9"N 10°44'51.5"E	IM-2013-31872	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia mutabilis</i>	France, Le Grau du Roi, 43°31'34.3"N 4°07'49.9"E	IM-2009-29683	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia mutabilis</i>	France, Le Grau du Roi, 43°31'34.3"N 4°07'49.9"E	IM-2009-29687	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia mutabilis</i>	France, Le Grau du Roi, 43°31'34.3"N 4°07'49.9"E	IM-2009-29690	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia mutabilis</i>	France, Le Grau du Roi, 43°31'34.3"N 4°07'49.9"E	IM-2009-29685	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia mutabilis</i>	France, Le Grau du Roi, 43°31'34.3"N 4°07'49.9"E	IM-2009-29689	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia mutabilis</i>	France, Le Grau du Roi, 43°31'34.3"N 4°07'49.9"E	IM-2009-29682	-----	AAXXXXXX
<i>Tritia mutabilis</i>	France, Le Grau du Roi, 43°31'34.3"N 4°07'49.9"E	IM-2009-29684	AAXXXXXX	-----
<i>Tritia mutabilis</i>	France, Le Grau du Roi, 43°31'34.3"N 4°07'49.9"E	IM-2009-29686	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia mutabilis</i>	France, Le Grau du Roi, 43°31'34.3"N 4°07'49.9"E	IM-2009-29688	AAXXXXXX ^c	-----

<i>Tritia reticulata</i>	Morocco, Dakhla	IM-2009-22578	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia nitida</i>	Tunisia, Bizerte, Kalatous, 37°15'20.8"N 9°51'06.5"E	IM-2013-32424	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia nitida</i>	Italy, Trieste, Muggia, 45°36'22.6"N, 13°46'06.9" E	IM-2013-32647	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia nitida</i>	Italy, Trieste, Muggia, 45°36'22.6"N, 13°46'06.9" E	IM_2013_3278	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia lonceolata</i>	Tunisia, Djerba, Sidi Jmour, 33°49'53.9"N 10°44'51.5"E	IM-2013-31962	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia lonceolata</i>	Tunisia, Djerba, Lagune Boughrara, 33°38'42.7"N 10°44'23.8"E	IM-2013-32028	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia djerbaensis.</i>	Tunisia, Djerba Midoun, 33°49'42"N 10°59'0"E	IM-2013-32652	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia djerbaensis</i>	Tunisia, Djerba, Midoun, 33°49'42"N 10°59'0"E	IM-2013-32653	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia tenuicosta</i>	Tunisia, Djerba, Sidi Jmour, 33°49'53.9"N 10°44'51.5"E	IM-2013-31868	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia tenuicosta</i>	Tunisia, Djerba, Sidi Jmour, 33°49'53.9"N 10°44'51.5"E	IM-2009-31986	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia tenuicosta</i>	Tunisia, Djerba, Sidi Jmour, 33°49'53.9"N 10°44'51.5"E	IM-2013-31864	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia tenuicosta</i>	Tunisia, Djerba, Sidi Jmour, 33°49'53.9"N 10°44'51.5"E	IM-2013-31866	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia tenuicosta</i>	Tunisia, Djerba, Sidi Jmour, 33°49'53.9"N 10°44'51.5"E	IM-2013-31865	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia tenuicosta</i>	Tunisia, Djerba, Sidi Jmour, 33°49'53.9"N 10°44'51.5"E	IM-2013-31968	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia tenuicosta</i>	Tunisia, Djerba, Sidi Jmour, 33°49'53.9"N 10°44'51.5"E	IM-2013-31867	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia tenuicosta</i>	Tunisia, Sidi Jmour, Djerba, 33°49'53.9"N 10°44'51.5"E	IM-2013-31987	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Spain, Isla de Tarifa, Cádiz 28°27'32.9"N, 16°14'37.4"W	IM_2009-5379	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Spain, Isla de Tarifa, Cádiz, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4"W	IM-2013-32856	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Spain, Isla de Tarifa, Cádiz, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4"W	IM-2013-32857	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Spain, Isla de Tarifa (Cádiz), 28°27'32.9"N, 16°14'37.4"W	IM-2009-5378	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Spain, Isla de Tarifa, Cádiz, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4"W	IM-2013-32850	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Spain, Isla de Tarifa, Cádiz, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4"W	IM-2009-9530	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Spain, Isla de Tarifa, Cádiz, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4"W	IM-2013-32855	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Spain, Isla de Tarifa, Cádiz, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4"W	IM-2013-32851	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Spain, Isla de Tarifa, Cádiz, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4"W	IM-2009-9531	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Spain, Isla de Tarifa, Cádiz, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4"W	IM-2013-32852	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Spain, Isla de Tarifa, Cádiz, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4"W	IM-2009-5377	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Spain, Isla de Tarifa, Cádiz, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4"W	IM-2013-5376	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Spain, Isla de Tarifa, Cádiz, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4"W	IM-2009-9532	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Spain, Isla de Tarifa, Cádiz, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4"W	IM-2009-9533	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Gran Canaria, 27°42'54.8"N 15°25'52.7" W	IM-2009-22531	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Tenerife, Playa Las Teresitas., 28°27'32.9"N, 16°14'37.4' W	IM-2009-22382	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Tenerife, Playa Las Teresitas, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4' W	IM-2009-22538	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Tenerife, Playa Las Teresitas, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4' W	IM-2009-22383	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Tenerife, Playa Las Teresitas, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4' W	IM-2009-22539	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Gran Canaria, 27°42'54.8"N, 15°25'52.7" W	IM-2009-22532	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX

<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Tenerife, Playa Las Teresitas, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4W	IM-2009-22381	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Tenerife, Playa Las Teresitas, 28°27'32.9"N 16°14'37.4W	IM-2009-22384	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Tenerife, Playa Las Teresitas, 28°27'32.9"N, 16°14'37.4W	IM-2009-22530	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Lanzarote, Islote de Feramia, 28°56'06.1"N, 13°32'59.1"W	IM-2013-32862	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Lanzarote. Islote de Feramia, 28°56'06.1"N, 13°32'59.1"W	IM-2009-22540	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Lanzarote, Islote de Feramia, 28°56'06.1"N, 13°32'59.1"W	IM-2013-32860	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	France, Banyuls, 42°28'54.6"N, 3°07'53.5"E	IM-2013-32880	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	France, Banyuls, 42°28'54.6"N, 3°07'53.5"E	IM-2013-32881	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Lanzarote, Islote de Feramia, 28°56'06.1"N, 13°32'59.1"W	IM-2013-32863	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Lanzarote, Islote de Feramia, 28°56'06.1"N, 13°32'59.1"W	IM-2009-32858	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Lanzarote, Islote de Feramia, 28°56'06.1"N, 13°32'59.1"W	IM-2009-32864	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Lanzarote, Islote de Feramia, 28°56'06.1"N, 13°32'59.1"W	IM-2013-32863	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Lanzarote, Islote de Feramia, 28°56'06.1"N, 13°32'59.1"W	IM-2009-32858	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia cuvierii</i> agg.	Canaries, Lanzarote, Islote de Feramia, 28°56'06.1"N, 13°32'59.1"W	IM-2009-32864	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia pallaryana</i> .	Tunisia, Djerba, Borj Jillij, 33°53'14.1"N 10°44'31.8"E	IM-2013-31770	AAXXXXXX ^c	AAXXXXXX ^c
<i>Tritia pallaryana</i>	Tunisia, Djerba, Borj Jillij, 33°53'14.1"N 10°44'31.8"E	IM-2013-31771	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia pallaryana</i>	Tunisia, Djerba, Borj Jillij, 33°53'14.1"N 10°44'31.8"E	IM-2013-31769	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia pallaryana</i>	Tunisia, Kerkennah Is, Borj Elhissar, 34°43'51.6"N 11°10'12.3"E	IM-2013-30941	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia corniculum</i>	Tunisia, Djerba, Borj Jillij, 33°53'14.1"N 10°44'31.8"E	IM-2013-31700	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia corniculum</i>	Tunisia, Bizerte, Errimel, 37°15'39.3"N 9°54'06.5"E	IM-2013-32872	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia corniculum</i>	Tunisia, Bizerte, Errimel, 37°15'39.3"N 9°54'06.5"E	IM-2013-32873	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia corniculum</i>	Tunisia, Bizerte, Errimel, 37°15'39.3"N 9°54'06.5"E	IM-2013-32874	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia corniculum</i>	Tunisia, Djerba, Borj Jillij, 33°53'14.1"N 10°44'31.8"E	IM-2009-30697	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia corniculum</i>	Tunisia, Djerba, Sidi Jmour 33°49'53.9"N 10°44'51.5"E	IM-2013-31873	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia corniculum</i>	Tunisia, Djerba, Mellita 33°51'53.5"N 10°44'28.6"E	IM-2009-30850	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia corniculum</i>	Tunisia, Djerba, Mellita 33°51'53.5"N 10°44'28.6"E	IM-2009-30848	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia corniculum</i>	Tunisia, Djerba, Mellita 33°51'53.5"N 10°44'28.6"E	IM-2009-30845	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia corniculum</i>	Tunisia, Djerba, Mellita 33°51'53.5"N 10°44'28.6"E	IM-2009-30700	AAXXXXXX ^c	-----
<i>Tritia corniculum</i>	Tunisia, Bizerte, Errimel, 37°15'39.3"N 9°54'06.5"E	IM-2013-32871	AAXXXXXX ^c	-----



Figure 1. Location of the localities of nassariids discussed in this paper.

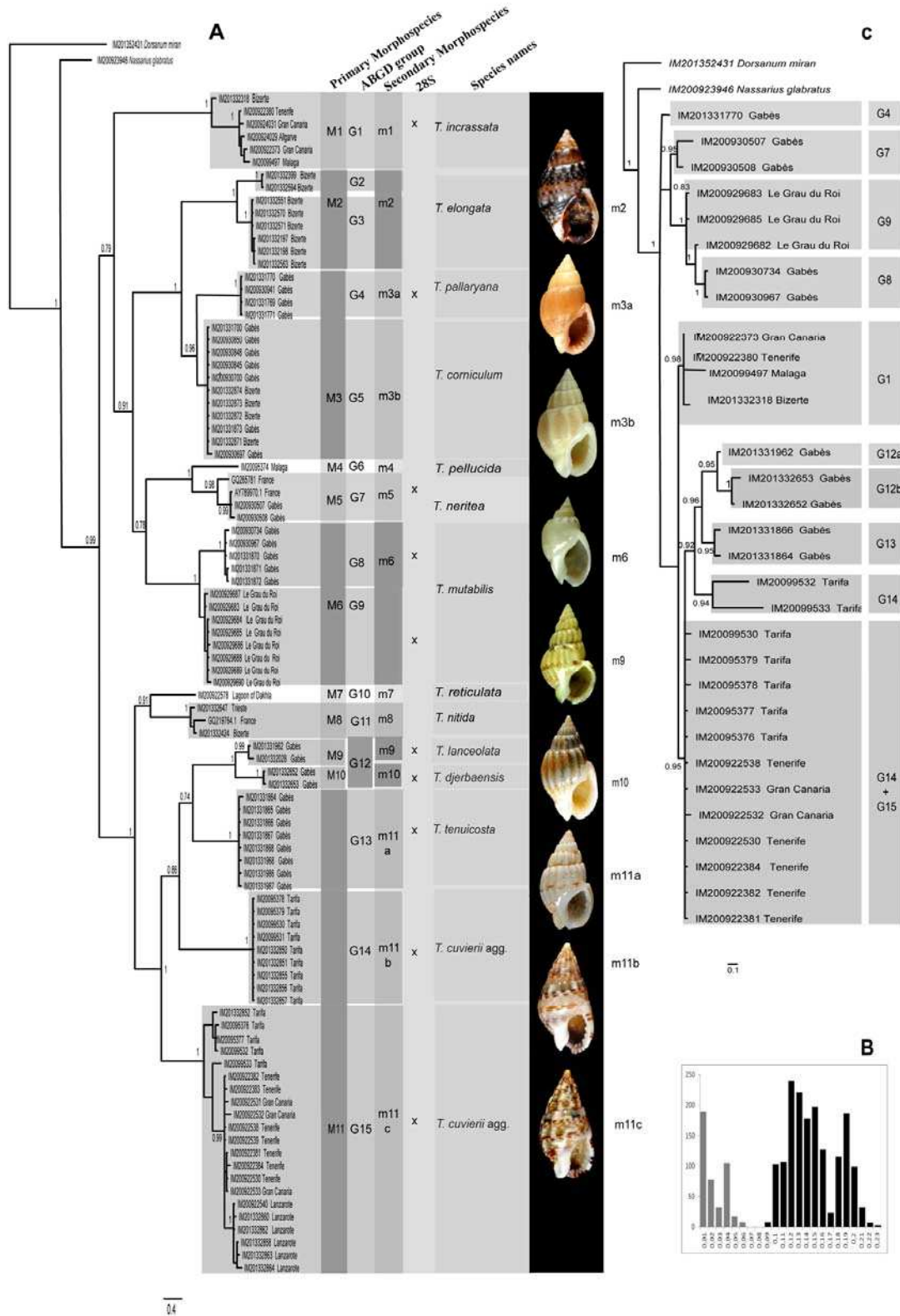
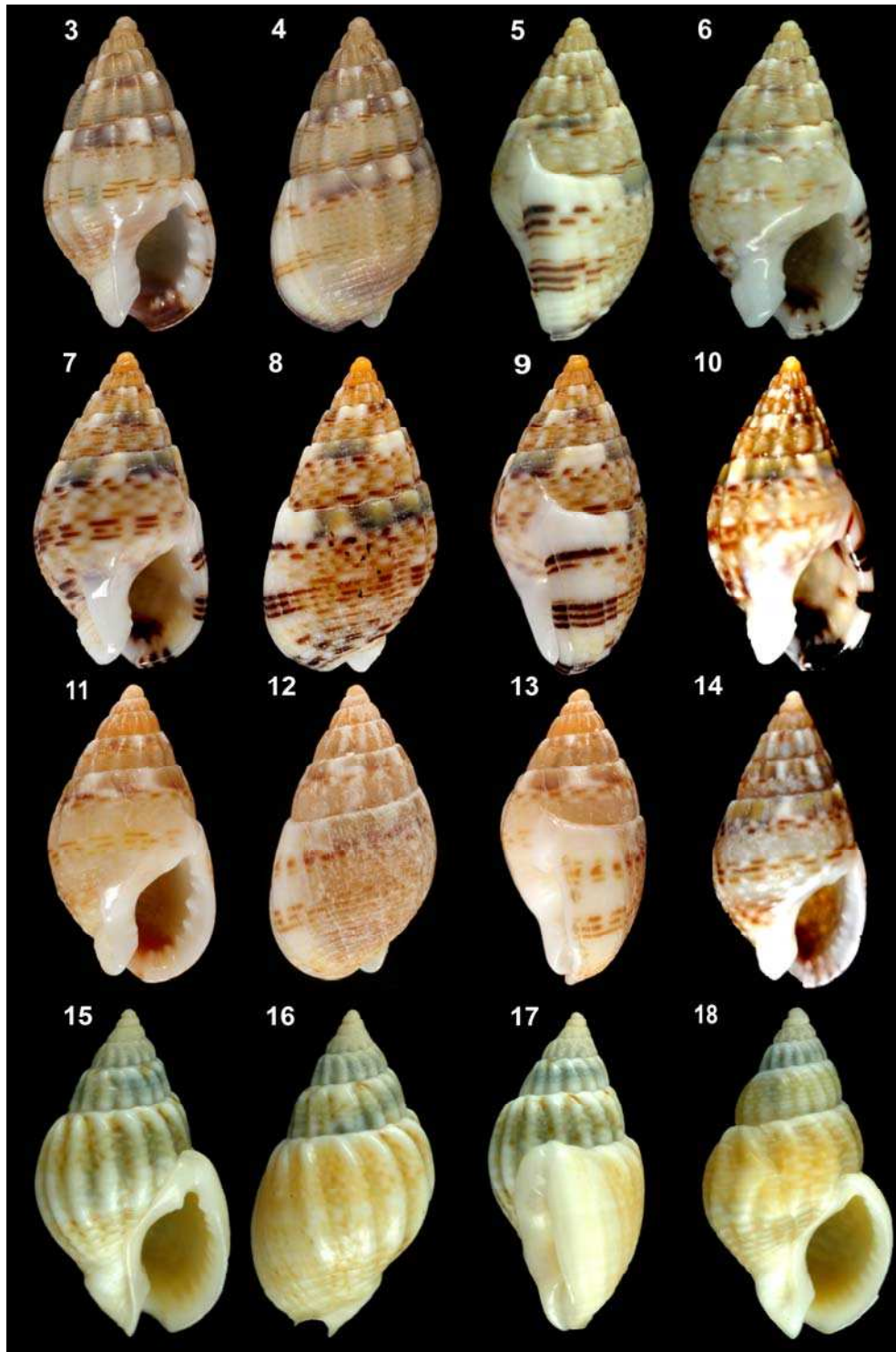
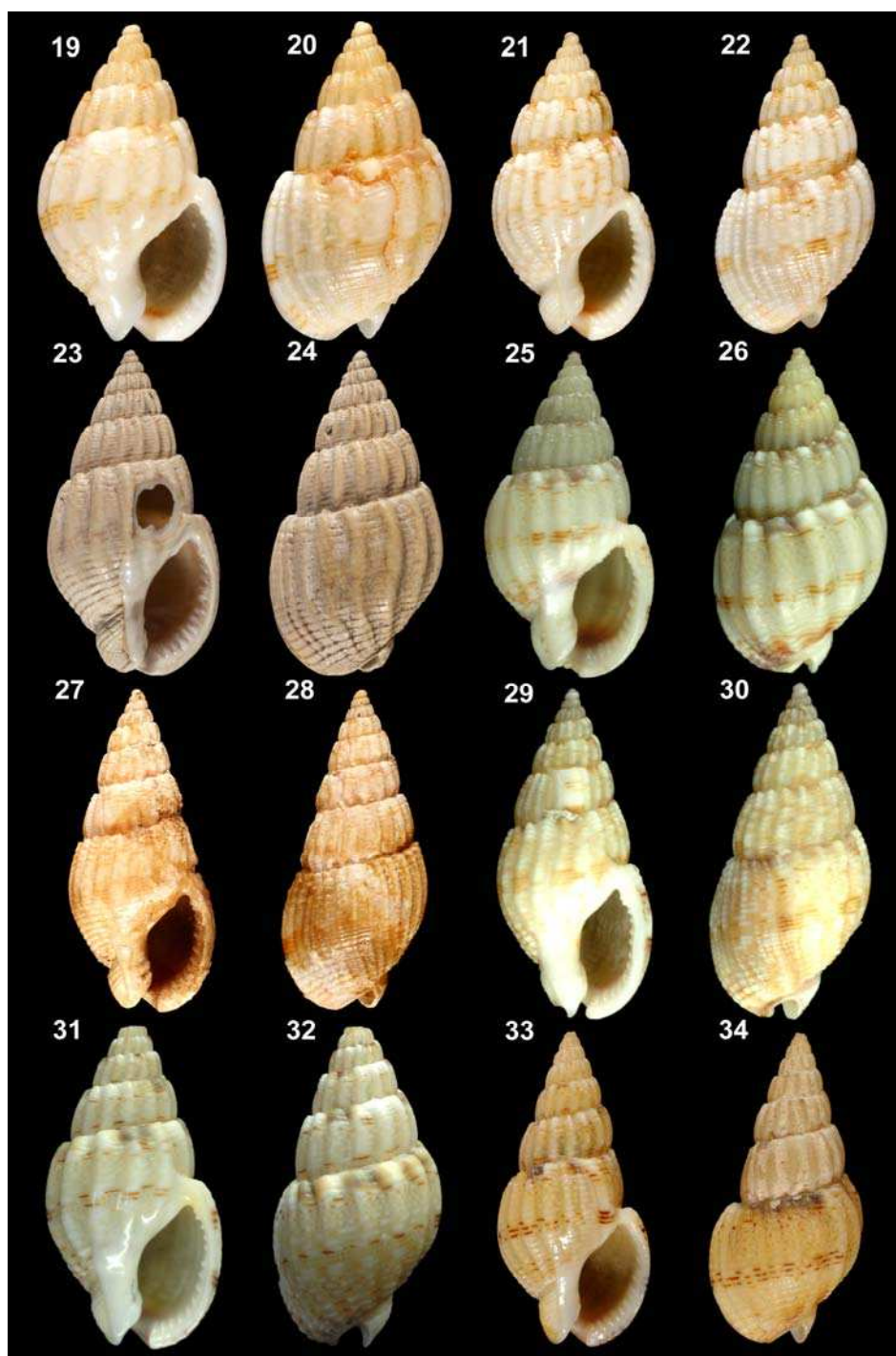


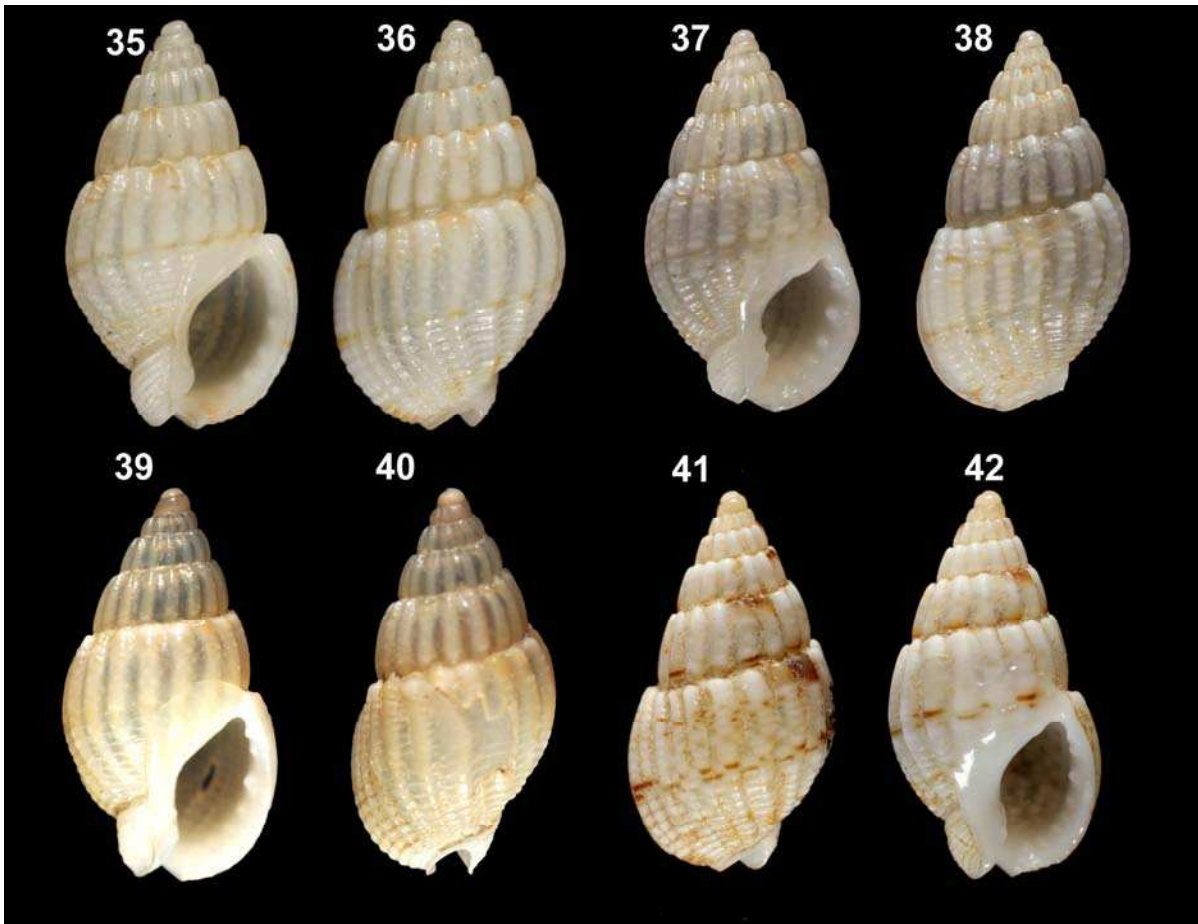
Figure 2. Bayesian phylogenetic trees based on the COI (A) and 28S (B) alignments. Probabilities (superior to 0.5) and bootstrap values (superior to 50) are given for each node. Morphospecies M1-M11 indicate the primary morphological identification of the assayed specimens, while m1-m11c indicate their secondary morphological identification. ABGD more inclusive partitions report the genetics groups (G1-G15) as molecularly identified. The shell of one assayed specimen for each of the major Gulf of Gabès lineages is illustrated.



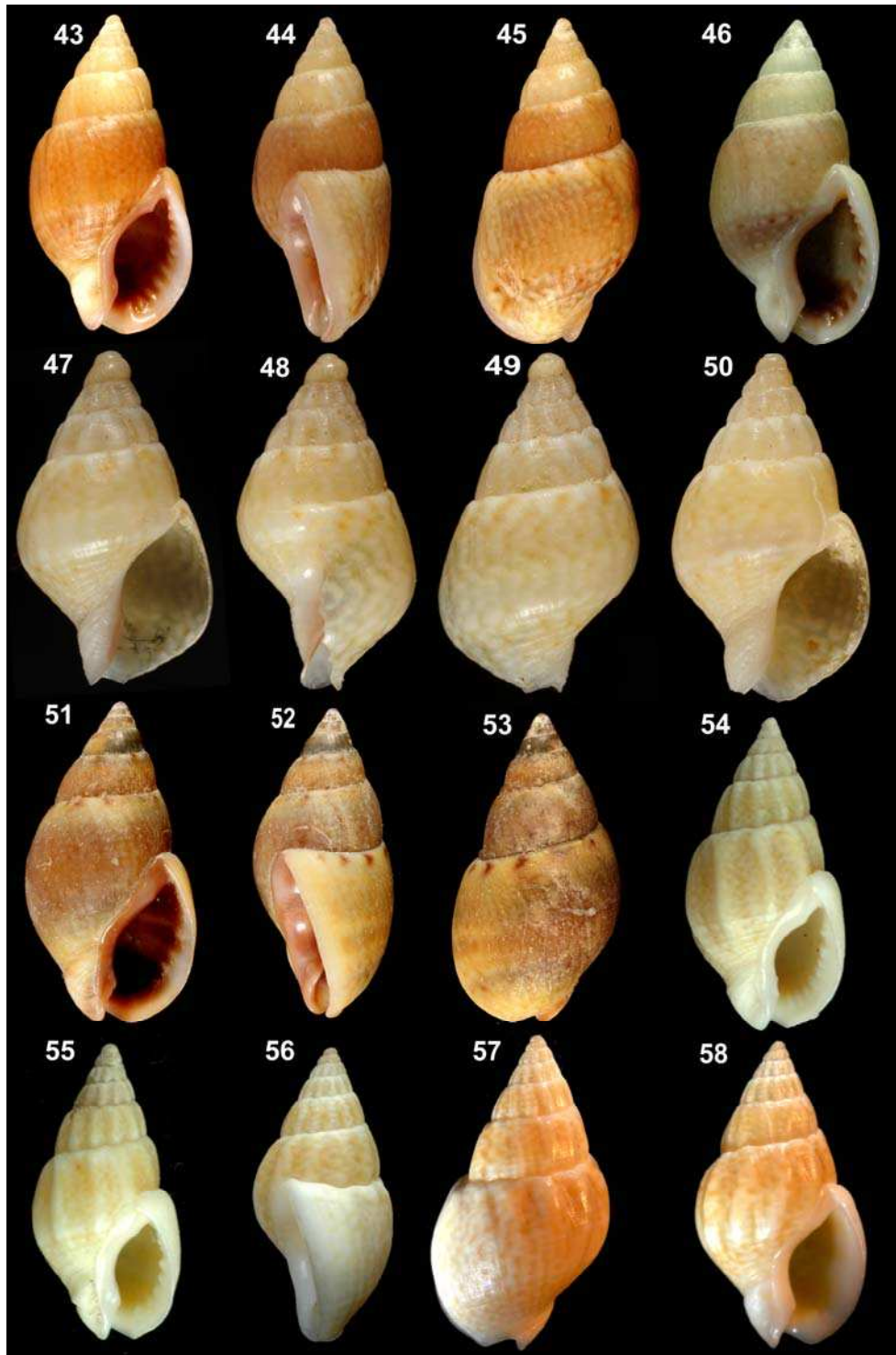
Figures 3-18. Shell variation in the *Tritia cuvieri* complex. 3-4. Neotype of *Buccinum cuvieri* Payraudeau designated by Moreno & Templado (1995), Porto Vecchio, Corsica, MNHN IM-2000-6677 (8.5 mm). 5-6. *Tritia cuvieri* agg., Lanzarote, Canaries, MNHN IM-2013-32860 (10.5 mm). 7-9. *Tritia cuvieri* agg., Lanzarote, Canaries, MNHN IM-2013-32864 (9.4 mm). 10. *Tritia cuvieri* agg., Lanzarote, Canaries, MNHN IM-2013-32862 (9.5 mm). 11-13. *Tritia cuvieri* agg., Tarifa, Spain, MNHN IM-2009-5378 (10.85 mm). 14. *Tritia cuvieri* agg., Lanzarote, Canaries, MNHN IM-2013-32863 (10.5 mm). 15-17. *Tritia djerbaensis* sp. nov., Djerba, Midoun, Tunisia, holotype, MNHN IM-2013-32652 (13.0 mm). 18. *Tritia djerbaensis* sp. nov., Djerba, Midoun, Tunisia, paratype, MNHN IM-2013-32653 (12.5 mm).



Figures 19-34. Shell variation in *Tritia lanceolata*. 19-20. *Nassa costulata* var. *turgida* B.D.D., Gulf of Gabès, lectotype (here designated), MNHN IM-2000-31756 (11.5 mm). 21-22. *Nassa costulata* var. *tenuicosta* B.D.D., Gulf of Gabès, paralectotype [B.D.D.'s fig. 30], MNHN-IM-2000-31758 (12 mm). 23-24. *Nassa ferussaci* ssp. *arcuata* Pallary, Sfax, lectotype (here designated), MNHN-IM-2000-6719 (15.5 mm). 25-26. *Nassa ferussaci* var. *claudoni* Pallary, Sfax, coll. Dautzenberg ex Bédé, RBINS (15 mm). 27-28. *Nassa costulata* var. *lanceolata* B.D.D., Gulf of Gabès, lectotype (here designated), MNHN IM-2000-31755 (14.4 mm). 29-30. *Nassa costulata* var. *lanceolata* B.D.D., Gulf of Gabès, probable paralectotype, RBINS, coll Dautzenberg (15 mm). 31-32. *Nassa ferussaci* var. *claudoni*, Djerba, neotype (here designated), MNHN IM-2013-31962 (16 mm). 33-34. *Tritia lanceolata*, Djerba, MNHN IM-2013-32028 (15 mm).



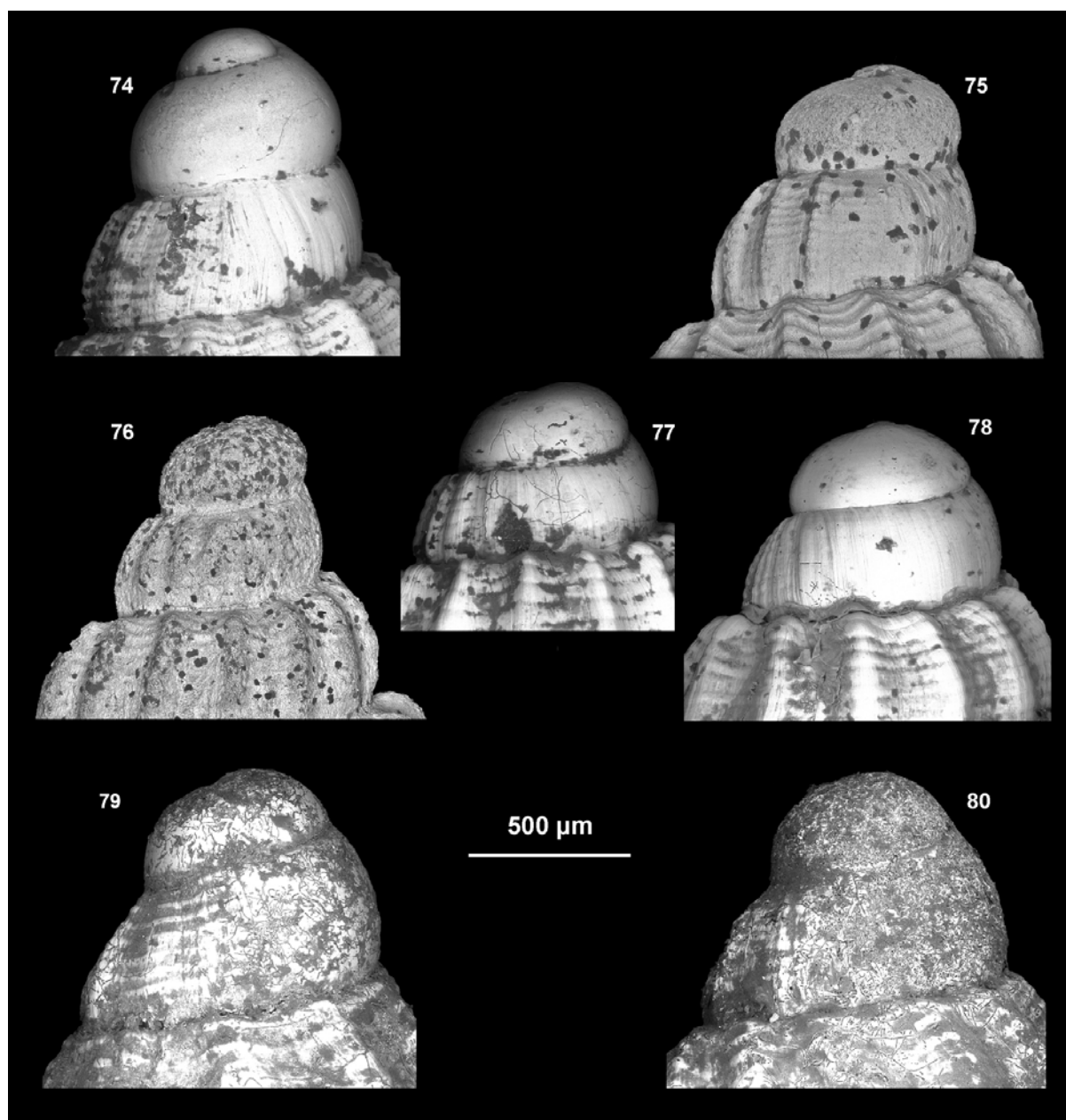
Figures 35-42. Shell variation in *Tritia tenuicosta*. 35-36. *Nassa costulata* var. *tenuicosta* B.D.D., Gulf of Gabès, lectotype (here designated), MNHN-IM-2000-31757 (8.1 mm). 37-38. *Nassa ferussaci exigua* Pallary, Sfax, lectotype (here designated), MNHN-IM-2000-6718 (9.1 mm). 39- 40. *Tritia tenuicosta*, Djerba, MNHN IM-2013-31987 (7.8 mm). 41-42. *Tritia tenuicosta*, Djerba, MNHN IM-2013-31968 (8 mm).



Figures 43-58. Shell variation in the *Tritia corniculum* complex. 43-45. *Tritia pallaryana* sp. nov., Borj Elhissar, Kerkennah I., Tunisia, holotype, MNHN IM-2009-30941 (12.7 mm). 46. *Tritia pallaryana* sp. nov., non sequenced specimen syntopic with holotype, MNHN IM-2009-30939 (13.1 mm). 47-50. *Tritia pallaryana* sp. nov., Borj Jillij, Djerba, juvenile paratypes, MNHN IM-2013-31769, IM-2013-31770 (respectively 6.5 mm and 5 mm). 51-53. *Tritia corniculum*, lagune of Bizerte, Tunisia, MNHN IM-2013-32874 (14.2 mm). 54. *Tritia corniculum*, form *bedei*, Borj Jillij, Djerba, MNHN IM-2009-30697- (12.5 mm). 55-56. *Tritia corniculum*, form *bedei*, Mellita, Djerba, MNHN IM-2009-30845 (12 mm). 57-58. *Tritia corniculum*, form *bedei*, Sidi Jmour, Djerba, MNHN IM-2013-31873 (13.5 mm).



Figures 59-73. Shell variation in *Tritia elongata*. 59-61. Errimel, Bizerte lagoon, MNHN IM-2013-32563 (13 mm). 62-63. Errimel, Bizerte lagoon, MNHN IM-2013-32594 (11.5 mm). 64-66. Roussillon, France, syntype of *Amycla corniculum* var. ex forma *elongata* var. ex col. *atrata* B.D.D. [B.D.D.'s fig.16] (13.8 mm). 67-68. Errimel, Bizerte lagoon, MNHN IM-2013-32551 (12 mm). 69-71. *Amycla corniculum* var. *elongata* B.D.D., Roussillon, France, lectotype (here designated), MNHN IM-2000-31758 (12.8 mm). 72-73. Errimel, Bizerte lagoon, MNHN IM-2013-32570 (12.5 mm).



Figures 74-80. Protoconchs. 74. *Tritia lanceolata*, probable paralectotype of *Nassa costulata* var. *lanceolata* B.D.D., coll. Dautzenberg, RBINS. 75. *Nassa ferussaci* var. *claudoni* Pallary., coll. Dautzenberg, Sfax, ex Bédé. 76. Syntype of *Nassa costulata* var. *tenuicosta* B.D.D. [B.D.D.'s fig. 30]. 77. *Tritia tenuicosta*, lectotype of *Nassa costulata* var. *tenuicosta*, MNHN-IM-2000-31757. 78. *Tritia tenuicosta*, Djerba, MNHN IM-2013-31968. 79. *Tritia pallaryana* sp. nov., paratype, MNHN IM-2013-31769. MNHN-IM-2000-31758. 80. *Tritia djerbaensis* sp. nov., paratype, MNHN-IM-2013-32653.

CHAPITRE VI

DIVERSITE CRYPTIQUE CHEZ LES MURICIDAE (CAENOGASTROPODA)

La famille des Muricidae comprend environ 1600 espèces décrites, habitant, la zone intertidale jusqu'à plus de 3000 m de profondeur (Barco *et al.* 2013b). Les muricidés sont des prédateurs, principalement de bivalves (Taylor *et al.* 1980). En raison de leur comportement prédateur, ils jouent un rôle important dans la composition des communautés benthiques (Menge 1974, Morton 1999 2004; Peharda & Morton 2005, Harding *et al.* 2007). Certaines espèces d'*Ocenebrina* et d'*Urosalpinx* ont un impact économique important (Claremont *et al.* 2013) car elles attaquent les élevages ostréicoles ; d'autres sont consommées (par exemple, *Murex*, *Bolinus*). La phylogénie de la famille a été l'objet de différentes études mais la classification est encore largement basée sur la morphologie de la coquille (Cossmann 1903, Thiele 1929, Wenz 1941, Keen 1971a, Bouchet *et al.* 2005, Barco *et al.* 2010) et il reste toujours des désaccords au niveau des regroupements génériques et familiaux.

6.1 Le genre *Ocenebrina* (Ocenebrinae)

Le genre *Ocenebrina* Jousseaume, 1880 se rencontre dans la mer Méditerranée, au nord de l'Atlantique et au nord-Est du Pacifique. Il comprend 23 espèces vivantes acceptées: 16 dans le nord Atlantique et la Méditerranée et 7 dans le Nord-Est de Pacifique (Worms 2016). Les espèces du Pacifique sont souvent attribuées à d'autres genres, tels qu'*Ocenebra* Gray, 1847 et *Urosalpinx* Stimpson, 1865. Les espèces de l'Atlantique et de la Méditerranée sont traditionnellement divisées en deux groupes: le complexe d'*O. aciculata* et le complexe d'*O. edwardsii*. Le complexe *O. aciculata*, récemment révisé par Crocetta *et al.* (2012) comprend 3 espèces: *O. aciculata* (Lamarck, 1822), *O. corallinoides* Pallary, 1912 et *O. reinai* Bonomolo & Crocetta, 2012. Le complexe d'*O. edwardsii* a été révisé par Barco *et al.* 2013b et compte 13 espèces: *O. edwardsii* (Payraudeau, 1826), *O. helleri* (Brusina, 1865), *O. hispidula* Pallary, 1904, *O. hybrida* (Aradas et Benoît, 1876), *O. ingloria* (Crosse, 1865), *O. inordinata* (Houart & Abreu, 1994), *O. leukos* Houart, 2000; *O. miscowichae* Pallary, 1920; *O. nicolai* Monterosato 1884; *O. paddeui* Bonomolo & Buzzurro, 2006; *O. piantonii* Cecalupo, Buzzurro & Mariani, 2008 et *O. purpuroidea* Pallary, 1920.

Ocenebrina edwardsii et *O. aciculata* sont généralement considérées comme deux espèces communes parmi les plus variables au sein des Muricidae européens. Il existe de nombreux noms établis pour distinguer leurs différents morphotypes dont le statut a été longuement débattu (Houart 2001).

La distribution d'*O. edwardsii* et *O. aciculata* s'étend sur toute la mer Méditerranée et dans l'océan Atlantique. Elles possèdent une protoconque paucispirale avec des larves intracapsulaires ou avec une très courte vie pélagique (Barco *et al.* 2013b, Crocetta *et al.*

2012). Parmi les 23 espèces acceptées dans les complexes *O. edwardsi* et *O. aciculata*, 6 espèces sont décrites classiquement comme endémiques du golfe de Gabès: deux espèces appartenant au complexe *O. aciculata* (*O. corallinoides* *O. buzzuroi*) et 4 espèces appartenant au complexe d'*O. edwardsii* (*O. hispidula*, *O. erronea*, *O. piantonii*, *O. carmelae*).

L'approche moléculaire constitue aujourd'hui un outil robuste pour résoudre l'ambiguïté dans la taxonomie des mollusques (Barco *et al.* 2013b, Crocetta *et al.* 2012). Les résultats préliminaires de ces travaux confirment l'existence d'une diversité cryptique au sein d'*O. edwardsii* et *O. aciculata*. Ainsi ils indiquent que *O. hispidula* est une espèce endémique du golfe de Gabès mais que *piantonii* et *carmelea* ne sont que deux phénotypes d'une même espèce.

Dans le présent travail nous avons augmenté l'aire géographique d'échantillonnage des populations des complexes *O. edwardsii* et *O. aciculata* afin de détecter l'existence éventuelle de nouvelles lignées en Méditerranée. On a inclu dans le jeu de données des spécimens de deux autres taxons nominaux morphologiquement identifiés comme *O. hybrida* et *O. corallinoides* dans le but de tester leur statut taxonomique et de valider ou rejeter l'endémicité des taxons morphologiquement proches décrits du golfe de Gabès.

6.1.1 Matériel et méthodes

Nous avons combiné 50 spécimens récoltés dans différentes localités de la Méditerranée (Bizerte, Tunisie; Ile de Limnos, mer Egée, Grèce; Tarifa, Espagne; golfe de Gabès, Tunisie) avec l'échantillonnage analysé précédemment par Barco *et al.* (2013b) et Crocetta *et al.* (2012). Cette démarche a permis de maximiser l'échantillonnage en termes de nombre d'individus et de localités (Fig. 11). L'identification morphologique de tous les spécimens a été réalisée dans un premier temps par Gianni Spada. Un deuxième retour à la morphologie de l'ensemble des coquilles a été fait par le spécialiste de ce groupe Marco Oliverio après les analyses moléculaires.

- Extraction de l'ADN, amplification et séquençage

Les ADN totaux sont extraits, à partir du pied des individus, avec la station d'extraction et de purification semi-automatique ABI PRISM™ 6100 Nucleic Acid Prep Station, selon les indications du fabricant. Un fragment des gènes mitochondrial COI (650 pb) et nucléaire 28S (730 pb) est amplifié à partir des amorces universelles LCOI1490 et HCO2198 (Folmer *et al.* 1994), C1 et D2 (Jovelín & Justine 2001). L'amplification des ADN totaux via des réactions de polymérisation en chaîne (PCR : Polymerase Chain Reaction) *in vitro* est réalisée dans un volume final de 25 µl, contenant approximativement 2,5 mM de

MgCl₂, 0,26 mM de chaque nucléotide, 0,3 µM de chaque amorce, 5% de DMSO et 1,5 unités de Q-Bio Taq, (QBiogene). Les produits de l'amplification sont générés par une étape de dénaturation initiale de 4 minutes à 94°C, suivie de 40 cycles de 30 secondes de dénaturation à 94°C, 40 secondes d'hybridation à 48°C pour le gène COI et à 52°C pour les gènes 28S et 1 minute d'élongation à 72°C. Le séquençage dans les deux sens des résultats de l'amplification est réalisé par le Eurofins (Paris, France). Les séquences sont nettoyées manuellement à l'aide du logiciel BioEdit version 7.0.5.3 (Larkin *et al.* 2007). L'alignement des séquences est réalisé à l'aide du programme ClustalX (Thompson *et al.* 1997) implémenté dans BioEdit.

- Délimitation des espèces et analyse phylogénétique

50 séquences de COI (658 pb) ont été obtenues et sont ensuite replacées dans un contexte phylogénétique plus large afin de tester leurs positions relatives. Pour cela le jeu de donnée de Barco *et al.* 2013b et Crocetta *et al.* 2012 basé sur le même gène est utilisé. Au total un jeu de données combinées de 293 séquences a été obtenu. La délimitation des espèces est effectuée par la méthode ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery method, Puillandre *et al.* 2012; [http:// www.wabi.snv.jussieu.fr/public/abgd/](http://www.wabi.snv.jussieu.fr/public/abgd/)) en utilisant les paramètres par défauts. L'examen de l'histogramme des distances génétiques permettra éventuellement de déterminer un seuil permettant de délimiter des groupes de spécimens au sein desquels la distance génétique moyenne est plus faible qu'elle ne l'est entre les groupes. Ensuite, afin de tester la monophylie des groupes génétiques définis par l'ABGD une analyse basée sur la méthode d'inférence Bayésienne est réalisée à l'aide du logiciel MrBayes 3.2 (Ronquist & Huelsenbeck 2003). Les paramètres choisis pour cette analyse sont de 5 millions de générations et la fréquence d'échantillonnage est de 1 sur 100. La convergence des analyses est contrôlée par le logiciel Tracer 1.4.1 (Rambaut & Drummond 2007). L'arbre consensus majoritaire et la distribution des probabilités postérieures (PP) des arbres sont calculés à partir de l'ensemble des arbres, après élimination de premières générations (25% de l'échantillonnage). Pour tous les jeux de données analysés, un même modèle d'évolution nucléotidique a été utilisé (GTR+G+I). Les groupes génétiques soutenus (Molecular Operative Taxonomic Units; MOTUs) seront rattachés provisoirement à des noms d'espèces disponibles ou nouveaux. Enfin, les résultats génétiques sont confrontés à une approche de taxonomie classique, indépendante, pour l'ensemble des individus.

6.1.2 Résultats

- Hypothèse de délimitation d'espèces

L'examen morphologique réalisé sur tous les individus récoltés sur l'ensemble des aires échantillonnées, a permis de mettre en évidence 13 morpho-groupes principaux (notés m1 à m15, Fig.12). A l'exception d'*O. mischowichae* (m1), ces morpho-groupes sont repartis en deux ensembles d'espèces chacun groupant de manière homogène des individus à coquilles proches. Dans le complexe d'*Ocinebrina aciculata* on série 3 morpho-groupes notés de m2 à m4 et reconnus comme: *O. aciculata*, *O. reinai* et *O. corallinoides*. Dans le complexe d'*Ocinebrina edwardsii* on a distingué 9 morpho-groupes: *O. hybrida*, *O. piantonii*, *O. carmelae*, *O. edwardsii*, et *O. hispidula*, *O. erronea* et *O. ingloria*, *O. cf. nicolai* et *O. leukos*.

Le gène COI de ces morpho-groupes a été analysé. 15 MOTUs sont bien délimités par la méthode de délimitation d'espèce (ABGD) et bien soutenus dans l'analyse bayésienne (PP entre 95 et 1%). Les MOTUs 1 et 5 présentent successivement des spécimens récoltés au Maroc et en Espagne attribués morphologiquement à m1 et m2. Ces deux MOTUs sont bien délimités dans des analyses précédentes (Barco *et al.* 2013b). Les MOTUs 3 et 6 sont aussi identifiés par Crocetta *et al.* 2012 et correspondent à m3 et m2 qui ont été récoltés en sympatrie à Toro Paterno (mer Tyrrhénienne centrale). Les MOTUs 2 et 4 contiennent des nouvelles séquences des spécimens récoltés dans la mer Egée (Grèce) et à Djerba (golfe de Gabès) et morphologiquement attribués à m2 et m4. Ces deux clades sont bien différenciés des clades précédents. La distance génétique entre (MOTU1- MOTU6) est comprise entre (0.3 et 7 %).

Le MOTU 7 contient des spécimens récoltés en sympatrie dans le golfe de Gabès et morphologiquement attribués à 3 morpho-groupes (m5, m6 et m7). Ces groupes sont par ailleurs morphologiquement très semblables ce qui renforce l'hypothèse de l'existence d'une seule et même entité taxonomique. Le MOTU 8 contient des spécimens attribués à m8 récoltés dans la mer Egée et la mer Ionienne (Grèce). Le MOTU 9 contient des spécimens récoltés dans le sud de la Sicile et à Lampedusa ; ils sont tous aussi attribués à m8. Le MOTU 10 contient des spécimens attribués à deux morphes (m9, m10) considérés comme endémiques du golfe de Gabès ce qui renforce l'hypothèse de l'existence d'une seule espèce. Le MOTU 11 contient des spécimens méditerranéens (dont la mer Egée), atlantiques, des îles Canaries et du Portugal (voir Tab.1). Ces spécimens sont classiquement séparés dans plusieurs morphes (m11, m12, et m8). La distance génétique entre le MOTU10 et MOTU11 est de 3%. Le MOTU 12 contient des spécimens de Corse, Puzzuoli (Campanie, Italie), Sardaigne et d'autres localités de la mer Tyrrhénienne et de Bizerte, ils sont tous attribués à

m8. Deux autres MOTUs génétiquement bien séparées (13 et 14) contiennent des spécimens récoltés dans la partie centrale de la mer Tyrrhénienne, Pallesrina, Puzzuoli et Pallinuro et également attribués à m8. La distance génétique entre ces deux clades est supérieure à 2%. Enfin le MOTU 15 contient des spécimens récoltés dans différentes localités de la mer Adriatique et Ionienne et sont attribués classiquement à m8 et m9.

6.1.3 Discussion

Le large effectif analysé dans chaque MOTU permet de proposer des hypothèses primaires de délimitation d'espèces au sein du genre *Ocinebrina*. Sur les 293 séquences analysées, la méthode de délimitation d'espèce ABGD basée sur le marqueur mitochondrial COI a permis de différencier 15 MOTUs génétiquement distincts. Ils représentent très probablement des espèces cryptiques au sein des deux complexes *Ocinebrina edwardsii* et *O. aciculata*. Les spécimens étudiés ont été rattachés d'après la morphologie de la coquille à 13 taxons nominaux acceptés dans la littérature:

- 9 appartenant au complexe *edwardsii*
- 3 au complexe *aciculata*.
- 1 correspond à *O. mischowichae*.

- Le complexe *Ocinebrina edwardsii* (Fig.13)

Dans cet ensemble il est donc reconnu 9 MOTUs génétiquement distincts (supportés par la méthode ABGD) dont sept ont été identifiés préalablement comme des *O. edwardsii*. Parmi ces 7 MOTUs, deux taxons ont été rattachés en fonction de leur distribution géographique ; ainsi le clade 12 correspond à *O. edwardsii* car il inclut des spécimens de sa localité type (Corse d'après Payraudeau 1826) ; il contient aussi des spécimens de Bizerte et d'autre localités (l'Est de Sardaigne, le nord de Sicile, et les côtes ouest de l'Italie). Selon Barco *et al* (2013b) ce clade est limité à la mer Tyrrhénienne et donc aussi à ses bordures (Bizerte, Tunisie). Le MOTU 15 contient des spécimens attribués à *O. ingloria* car récoltés dans la localité type, la lagune de Venise. D'autres spécimens, de la mer Adriatique, identifiés d'après la morphologie de la coquille sont inclus dans ce MOTU. Dès lors, l'hypothèse avancée par Barco *et al.* (2013b) que tous les spécimens de la mer Adriatique identifiés comme *O. edwardsii* sont en réalité des *O. ingloria* est ici confirmée.

Le clade 11 contient aussi des spécimens morphologiquement déterminés comme *O. edwardsii* collectés sur les côtes atlantiques et méditerranéenne (Portugal, îles des Canaries, Espagne : Malaga et Tarifa); des spécimens identifiés comme *O. leukos* des îles Canaries et

des spécimens identifiés comme *O. nicolai* de Galice, d'Espagne (Andalousie, Barbate) et de Ponta da Piedade (Algarve). Selon Barco *et al.* 2013b, les spécimens d'*O. edwardsii* de ce clade sont morphologiquement différents de *O. leukos* des îles Canaries (Lanzarote) ce qui n'est pas confirmé par les données moléculaires. *O. nicolai* est une espèce typique de Corse, Sardaigne, et des îles Lipari (Monterosato 1884). D'après M. Oliverio (comm. pers.) l'holotype de cette espèce (Collection de Monterosato) est morphologiquement différent des spécimens séquencés ; pour cette raison le nom *nicolai* ne peut pas être appliqué à ce clade, il convient d'attendre des données génétiques sur du matériel de la localité type.

Le clade 10 contient des spécimens morphologiquement identifiés *O. hispidula*. Cette espèce est considérée comme une variété de d'*O. edwardsii* du golfe de Gabès par Pallary (1904). Or, ce clade apparaît clairement distinct de tous les autres comme le confirme la large distance génétique avec des spécimens identifiés comme *edwardsii* (en Corse, localité type de cette espèce) et Sicile (clade 9); ce qui rejoint l'étude de Barco *et al.* (2013a, b). Dans notre analyse *O. hispidula* est un groupe sœur de *O. cf. edwardsii* du clade 11 (distribué sur les côtes espagnoles (Cadix) et portugaises (Algarve), du détroit de Gibraltar et des îles Canaries et dans une moindre mesure du véritable *O. edwardsii* de Corse et de Sicile. Par ailleurs dans notre jeu de données un seul spécimen a été identifié comme *O. erronea* (Settepassi, 1977) par Barco *et al.* (2013b). Ce spécimen est génétiquement inséparable de *O. hispidula* qui confirme l'opinion de Cossignani & Ardevini (2011) qui mettent en synonymie *O. erronea*. A noter que la distribution géographique de *O. hispidula* est similaire à celles observées par exemple chez le gastéropode Vermetidae *Dendropoma* (Calvo *et al.* 2009).

Le Clade 7, *O. piantonii* Cecalupo, Buzzurro & Mariani, 2008 et *O. carmelae* Cecalupo, Buzzurro & Mariani, 2008 sont deux espèces décrites récemment comme endémiques du golfe de Gabès (Cecalupo *et al.* 2008). Ces deux « espèces » sont inséparables génétiquement (Barco *et al.* 2013b) et ne diffèrent que par leurs couleurs, l'une blanche l'autre noire. Cependant, notre analyse montre également que les spécimens identifiés comme *O. piantonii*, *O. carmelae* et *O. hybrida*, récoltés en sympatrie dans le golfe de Gabès, appartiennent tous au clade 7. Il s'agit donc d'une seule entité taxonomique non endémique du golfe de Gabès. Ce clade est génétiquement lié à un clade de Méditerranée orientale (Clade 8) récolté dans la mer Egée et Ionienne.

A signaler qu'il manque dans notre jeu de données du matériel génétique d'*O. helleri* décrite sous le nom de *Fusus helleri* (Brusina, 1865) de Croatie et du Monténégro, d'*O. peddeui* de Capo Caccia, Italie et de *Murex baeticus* (Reeve, 1845). Leurs ajouts dans des

futurs travaux peuvent nous apporter des précisions sur la taxonomie et la délimitation des clades observés.

- Le complexe *Ocinebrina aciculata*

Cette étude met en évidence 5 MOTUs génétiquement distincts supportés par la méthode ABGD attribués préalablement à *O. aciculata*. Un clade (clade 4) est identifié comme *O. corallinoides* car les spécimens analysés proviennent de la localité type (golfe de Gabès). Classiquement considéré comme une sous-espèce d'*Ocinebrina aciculata*, *O. corallinoides* apparaît être une espèce valide endémique du golfe de Gabès.

Les clades 3 et 6 déjà délimités par Crocetta *et al.* 2012 ont été attribués à *O. reinai* et à *O. aciculata*. Ces deux espèces sont récoltées en sympatrie à Toro Paterno (mer Tyrrhénienne) et demeure génétiquement distinctes des autres clades identifiés *O. aciculata*. Le clade 5 correspond à une population récoltée à Baiona, Espagne (Barco *et al.* 2013b) et le clade 2 correspond à une population récoltée dans les Iles de Limnos en mer Egée. Les clades 6, 5 et 2 sont temporairement nommés *aciculata* en attendant une clarification taxonomique. Dans un article en cours avec M. Oliverio il est prévu de décrire au moins deux nouvelles espèces.

6.1.4 Conclusion

Sur les cinq espèces considérées comme endémiques du golfe de Gabès, deux espèces sont validées par cette étude. Les analyses génétiques révèlent par ailleurs une diversité cryptique importante au sein du genre *Ocinebrina* dans la Méditerranée et les côtes nord- Est de l'Atlantique. Cette diversité cryptique est similaire à celle trouvée chez plusieurs genres de gastéropodes méditerranéens (*Dendropoma* Calvo *et al.* 2009; genre *Phorcus* Donald *et al.* 2012, genre *Patella* Sa-Pinto *et al.* 2008). La distribution du complexe *Ocinebrina edwardsii* le long des côtes atlantiques et méditerranéennes pourrait être liée à des recolonisations successives de différentes populations de l'Atlantique.

L'histoire récente (Quaternaire et Holocène) de la Méditerranée montre des phases de baisses et élévation du niveau marin conduisant à des isolements de populations. Par exemple la séparation des bassins de la Méditerranée occidentale et orientale par l'émersion du Seuil de Sicile au cours des cycles glaciaires du Quaternaire est souvent mis en corrélation avec la distinction actuelle entre différentes populations (Oliverio 1994, Calvo *et al.* 2009). L'addition d'autres gènes (nucléaires) et des données réactualisées sur les fossiles pourraient apporter des précisions sur l'origine des différents clades observés chez *Ocinebrina*.

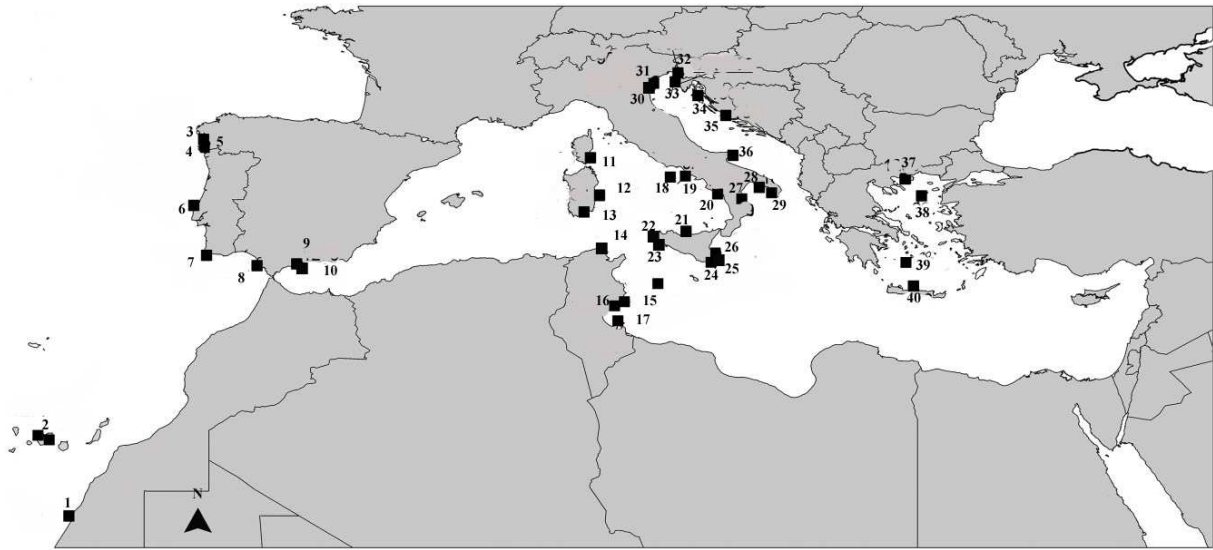


Figure 11. Localisation du matériel séquençé et discuté dans le complexe *Ocinebrina edwardsii*. 1 : Dakhla (Maroc), 2: Tenerife (I. Canaries), 3: Gove (Espagne), 4: Bayona (Espagne), 5: Vigo (Espagne), 6: Peniche (Portugal), 7 : Off Ponta da Piedade (Portugal), 8: Barbate (Espagne), 9: Benalmadena (Espagne), 10: Calahonda (Espagne), 11: Corse, 12: Santa Marina (Sardaigne), 13: Cagliari (Sardaigne), 14: Bizerte, (Tunisie) 15: Lampedousa, 16: Kerkennah et Sfax (Tunisie), 17: Djerba (Tunisie), 18: Bacoli (Italie), 19: Zannone (Italie), 20: Palinuro (Italie), 21: Cefalu (Sicile), 22: Marittimo (Sicile), 23: Punta Mugnone (Sicile), 24: Marzamemmi (Sicile), 25: Siracuse (Sicile), 26: Augusta (Sicile), 27: Marina Di Schio vonia (Italie), 28 : Campomarino (Italie), 29: Galippoli (Italie), 30: Lagune de Venise (Italie), 31: Pellestrina (Italie), 32: Muggia (Italie), 33: Umag (Croatie), 34: Punta Criza (Croatie), 35: Murter (Croatie), 36: Pugniochiuso (Italie), 37: Kavala (Grèce), 38: Limnos (Grèce), 39: Milos (Grèce), 40: Lygaria (Crète).

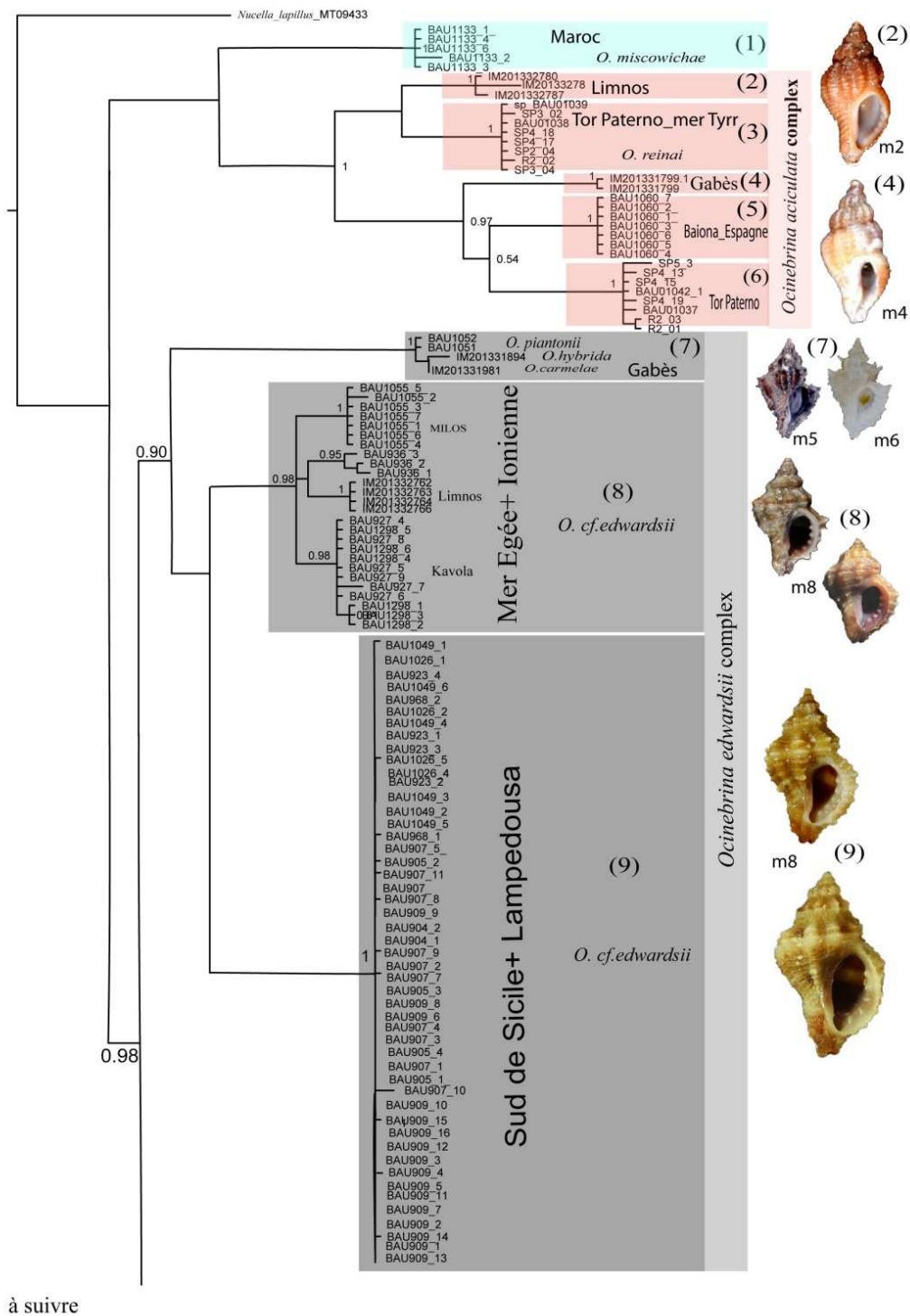


Figure 12. Phylogénie moléculaire chez le genre *Ocinebrina* (Gastropoda: Muricidae) produite par des analyses d'inférence bayésienne du gène COI. Les PP < 50% ne sont pas représentées. 9 lignées (1-15) sont délimitées et bien supportées par les analyses phylogénétiques.

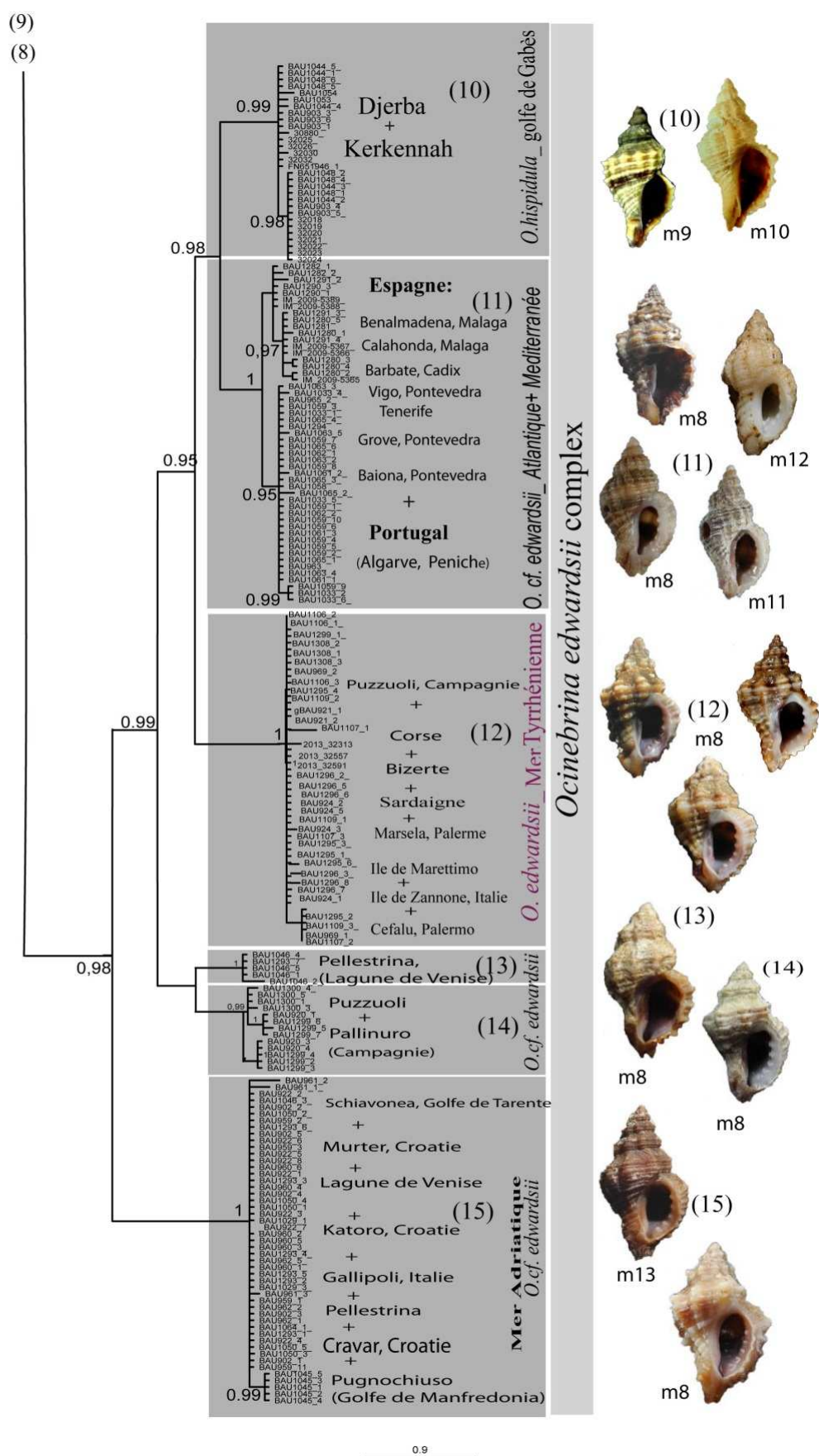


Figure 12 – Suite. Phylogénie moléculaire chez le genre *Ocinebrina* (Gastropoda: Muricidae) produite par des analyses d'inférence bayésienne du gène COI. Les PP < 50% ne sont pas représentées. 9 lignées (1-15) sont délimitées et bien supportées par les analyses phylogénétiques.

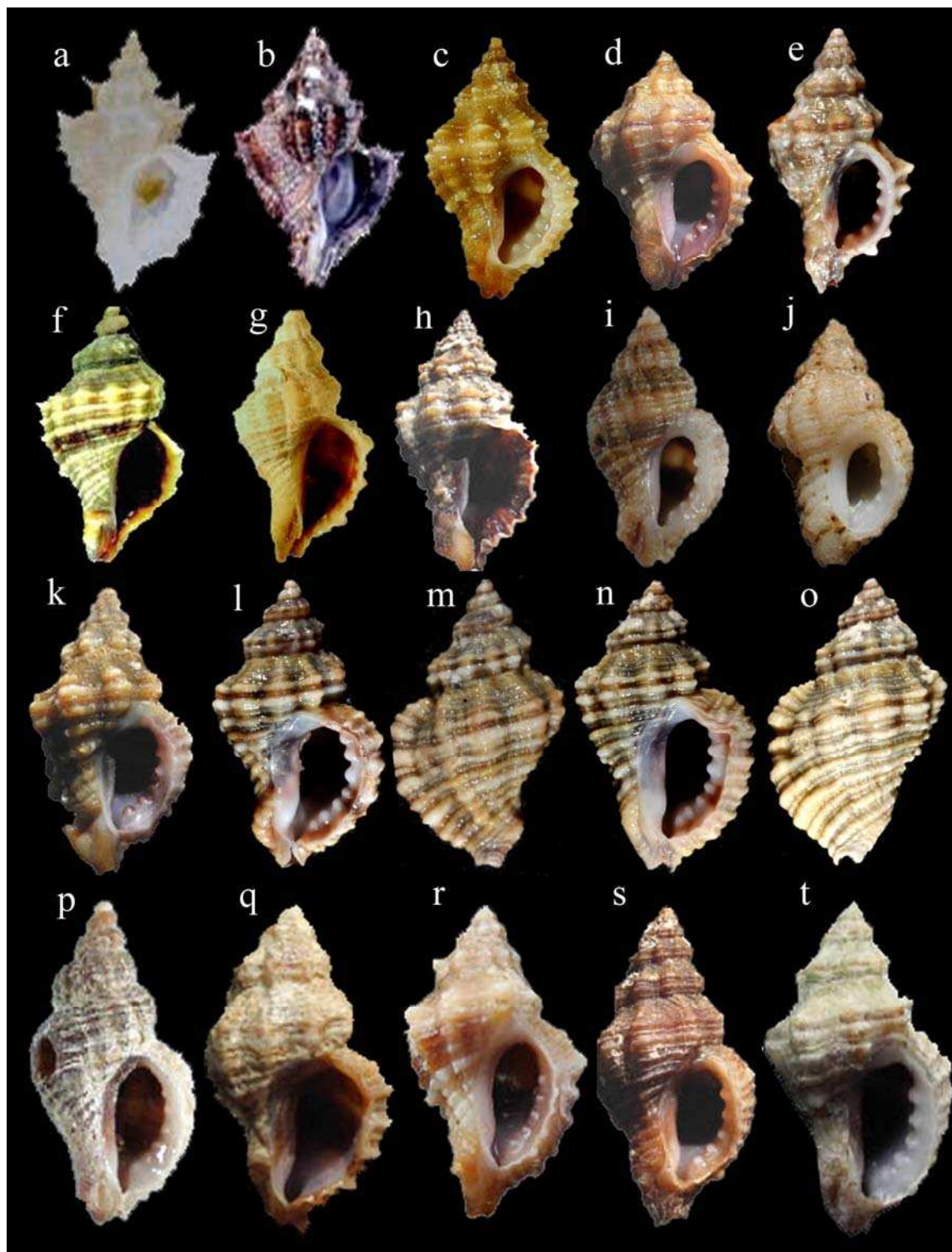


Figure 13. Diversité cryptique au sein du complexe *Ocenebrina edwardsii* selon l'identification morphologique primaire. a: *O. piantonii*, golfe de Gabès; b: *O. carmelae*, golfe de Gabès; c: *O. edwardsii*, Augusta, Italie; d: *O. edwardsii*, Kavala, Grèce; e: *O. edwardsii*, Kavala, Grèce; f: *O. edwardsii*, Limnos, Grèce; f-g: *O. hispidula*, Djerba; h : *O. edwardsii*, Tenerife, I. Canaries; i : *O. edwardsii*, Peniche, Portugal; j: *O. leukos*, Tenerife, Espagne; k-o: *O. edwardsii*, Porto Vecchio (k), Bizerte (l-o); p: *O. nicolai* sensu Rolán, Vigo, Espagne; q: *O. edwardsii*, Puzzuoli, Italie; r: *O. edwardsii*, Murter, Croatie; s : *O. ingloria*, Lagune de Venise; t : *O. edwardsii*, Puzzuoli, Italie.
Remarques: Les figures a, c-d ; g-k ; p-t ; sont extraites de Barco *et al.* 2016

Notre travail sur le complexe *Ocenebrina aciculata* est intégré à un article soumis dans la revue *Journal of Molluscan Studies* (Article 4).

Article 4: THE IDENTITY OF THE TYPE SPECIES OF THE SMALL MUSSEL DRILLS GENUS *OCINEBRINA* JOUSSEAUME, 1880 (MOLLUSCA: GASTROPODA: MURICIDAE), WITH THE DESCRIPTION OF A NEW SPECIES

ANDREA BARCO¹, CHRIFA AISSAOUI²⁻³, ROLAND HOUART⁴ GIUSEPPE BONOMOLO⁵,
FABIO CROCETTA⁶, MARCO OLIVERIO^{7*}

¹ GEOMAR, Helmholtz Centre for Ocean Research, Düsternbrooker Weg 20, 24105 Kiel, Germany.

² Institut de Systématique, Évolution, Biodiversité ISYEB - UMR 7205 – CNRS, MNHN, UPMC, EPHE, Muséum national d'Histoire naturelle, Sorbonne Universités, 55 rue Buffon, F-75231, Paris, France.

³ Université de Carthage, Faculté des Sciences de Bizerte. Laboratoire de Biosurveillance de l'Environnement (Unité. Hydrobiologie littorale et limnique), 7021 Jarzouna. TUNISIE.

⁴ Institut royal des Sciences naturelles de Belgique, Rue Vautier, 29, B-1000 Bruxelles, Belgium.

⁵ Via Padre Vincenzo Pellegrini 15, I-60035 Jesi, Italy.

⁶ Hellenic Centre for Marine Research, Institute of Marine Biological Resources and Inland Waters, GR-19013, Anavyssos, Greece

⁷ Dipartimento di Biologia e Biotechnologie “Charles Darwin”, La Sapienza University, Viale dell'Università 32, I-00185 Roma, Italy.

Correspondence: Marco Oliverio; E-mail: marco.oliverio@uniroma1.it

ABSTRACT

We used a molecular phylogenetic approach to investigate species delimitations and diversification in the North-eastern Atlantic and Mediterranean small mussel-drills of the *Ocinebrina aciculata*-complex based on molecular data from topotypical material of many of the involved nominal taxa. The complex is shown to consist of at least five species. *Ocinebrina aciculata* (Lamarck, 1822), with a range restricted to the Atlantic; *O. corallina* (Scacchi, 1836), from the Mediterranean Sea; *Ocinebrina reinai* Bonomolo & Crocetta, 2012, from the Central Mediterranean Sea; *O. corallinoides* Pallary, 1912, endemic to the Gulf of Gabès; and *Ocinebrina aegensis* n. sp. currently known only from the Aegean Sea. The latter is differentiated from the other taxa by very subtle morphological diagnostic features, although it is clearly identified by genetic distance and sequence apomorphic characters.

INTRODUCTION

Muricid gastropods (Neogastropoda, Muricidae) play key roles in benthic communities, including predators of remarkable interest because of their potential impact on marine resources (oyster-drills, mussel-drills, rock-shells), and in general due to their role in shaping the structure of marine benthic communities (Harding *et al.*, 2007; Morton, 1999, 2004; Peharda & Morton, 2006). The family Muricidae Rafinesque, 1815, is among the most diverse groups of marine gastropods, with over 1600 extant named species and a very rich fossil

record. The genus *Ocenebrina* Jousseaume, 1880, as currently conceived comprises small mussel-drills with a fusiform shell up to 26 mm long, paucispiral protoconch, 5–6.5 teleoconch whorls in the adults, short and ventrally sealed siphonal canal and a varicose outer lip, with usually 5–6 internal denticles (Houart, 2001). The Northeastern Atlantic and Mediterranean species are traditionally divided into two groups of morphological affinities: the *Ocenebrina edwardsii* (Payraudeau, 1826) complex and the *O. aciculata* (Lamarck, 1822) complex. Barco *et al.* (2013) recently showed, based on molecular data, that the *O. edwardsii*-complex actually comprises at least eight MOTUs not completely fitting the traditional morphological taxonomic scheme. The *O. aciculata*-complex has been partly revised by Crocetta *et al.* (2012), but a wider geographic and taxonomic sampling was invoked to better define the taxonomy of this group. Noteworthy, the type species of the genus *Ocenebrina* is *Murex corallinus* Scacchi, 1836, originally described from Italy, Mediterranean Sea, and currently considered, based on a morphological assessment, as a junior synonym of *O. aciculata*, originally described from Brittany, Atlantic Ocean (Houart, 2001; Crocetta *et al.*, 2012).

In the present paper we revise the *Ocenebrina aciculata*-complex by enlarging the geographic coverage with respect to Crocetta *et al.* (2012), and sequencing samples from as close as possible to the type locality of: *Murex aciculatus* Lamarck, 1822 (near Vannes, Atlantic), *Murex corallinus* Scacchi, 1836 (off Cuma, Mediterranean), *Ocenebrina corallinoides* Pallary, 1912 (near Sfax, Gulf of Gabès, Mediterranean), *Ocenebrina aciculata exilis* Houart (NW of Bou Grara Sea, Mediterranean), *Ocenebrina buzzurroi* Cicalupo and Mariani (Borj el Hissar, Kerkennah, Mediterranean), and not far from the area of the type localities of *Murex inconspicuus* Sowerby, 1841 (Jersey, Atlantic) and *Murex subaciculatus* Locard, 1886 (Toulon, Mediterranean). We have addressed hereby by DNA sequence data the actual identity of the nominal species involved (including the type species of the genus), testing whether sequence-based clustering corresponds to prior taxonomic assignments, and exploring whether previously unrecognized species are represented in our dataset.

MATERIALS AND METHODS

Collecting data, voucher ID and GenBank accession numbers are reported in Table 1 (see Fig. 1). Samples were collected by SCUBA diving and fixed in ethanol upon collection.

Total genomic DNA was extracted using a standard proteinase K phenol-chloroform method with ethanol precipitation as reported in Oliverio and Mariottini (2001). The DNA-barcode fragments of the mitochondrial cytochrome oxidase I (COI) was amplified by PCR

using the universal primers LCO1490 and HCO2198 (Folmer *et al.* 1994). PCR conditions: 30 amplification cycles [30 s at 94° C, 30 s at 60° C, 1 min and 30 s at 72°C]. PCR products were purified using Exosap-IT (USB Corporation) and sequenced by Macrogen Inc. (Seoul, S. Korea). Sequences were readily aligned by hand. Pairwise distances were calculated in MEGA v. 6.0 (Tamura *et al.*, 2013) using a K2P substitution model as in previous COI-based studies

We analysed our data using a distance-based and a tree-based approach. The former method was used to define the limit between intraspecific and interspecific distances based on our prior taxonomic assignments. In the distance-based approach we defined two distance thresholds using “threshold optimization” and “local minima” functions in SPIDER (Brown *et al.*, 2012) as described in Barco *et al.* (2016). We used our thresholds to test our prior taxonomic assignments by verifying that intraspecific distances were all of lower value.

The tree-based method was used to phylogenetically define Molecular Operational Taxonomic Units (MOTUs) to be compared with both distance threshold and prior taxonomic assignments. In the tree-based approach we used the Generalized Mixed Yule-Coalescent (GMYC) as described in Barco *et al.* (2013). GMYC (Pons *et al.*, 2006) uses the differences of the branching rates in an ultrametric phylogenetic tree to distinguish between inter and intraspecific branching events, and thus determine species boundaries. An ultrametric tree was obtained in BEAST (Drummond & Rambaut, 2007) using the K2P substitution model, a relaxed lognormal clock, a substitution rate fixed to one and a constant coalescent prior. Two BEAST runs with 10^8 generations each were performed; a tree was sampled every 10^4 generation to obtain two samples of 10^4 trees. Convergence was evaluated with Tracer (Rambaut & Drummond, 2003) for effective sample size (ESS) values > 200. Trees were combined with LogCombiner (Rambaut & Drummond, 2003) and then summarized in a maximum credibility tree with TreeAnnotator (Rambaut & Drummond, 2003). The consensus tree was analysed, applying the multiple-threshold GMYC function from the SPLITS package (Ezard, Fujisawa & Barraclough, 2009) in R (<http://www.R-project.org>).

Diagnostic (autapomorphic) nucleotides among MOTUs were identified in our alignment using the *nucDiag* function in SPIDER (Brown *et al.*, 2012).

RESULTS

Partial sequences of the mtDNA encoding the COI were obtained from 44 specimens morphologically ascribed to 4 species of the *O. aciculata* complex (Table 1). Sequences were deposited in GenBank (WWWWWWW–WWWWWWW). A total of 658 bp were

unambiguously aligned, without gaps, with 98 variable positions and 78 parsimony informative sites. Mean genetic distances within and across MOTUs (as defined below) are reported in Table 2.

Both runs in BEAST reached ESS values higher than 200, and the ‘burnin’ was set to half of the generations. A final sample of 10^4 trees was used to obtain the maximum clade credibility tree shown in Figure 2. In the phylogenetic analysis sequences were divided in two major clades:

clade A, including sequences of specimens from the Aegean Sea (A1: morphologically ascribed to *O. aciculata*) and sequences of *O. reinai* from the Tyrrhenian Sea (A2);
clade B, including sequences of *O. corallinoides* from the from the Gulf of Gabes (B1), and of specimens morphologically identified as *O. aciculata* from several localities in the Northwestern Atlantic (B2) and from the Tyrrhenian Sea(B3).

All prior morphological identifications except *O. aciculata* were confirmed by high supported monophyly. The Aegean specimens morphologically ascribed to *O. aciculata* were monophyletic but more closely related to *O. reinai* than to any other clade (including specimens from NE Atlantic). A specimen from Azores Islands (BAU00778) morphologically identified as *O. aciculata* was more closely related to *O. corallinoides* than to any other clade.

The threshold optimization method calculated that a distance range of 0.027–0.031 defines the best limit between intraspecific and interspecific distances, and the local minima threshold provided the comparable value of 0.023. All maximum intraspecific distances, were below both thresholds, except those among sequences of specimens morphologically identified as *O. aciculata*. The maximum intraspecific distances among specimens morphologically ascribed to *O. aciculata* was 0.077, largely above the threshold.

The annotated tree resulting from our BEAST analysis (Fig. 2) reports GMYC delimitations. The estimated threshold delimited sequences in 8 MOTUs, with a broad confidence interval (2-29). These MOTUs were largely congruent with phylogenetic clusters. The polyphyly of *O. aciculata* as morphologically conceived was confirmed resulting in three to four distinct MOTUs. Clades A1 and B2 were divided in two MOTUs each (see Fig. 2), but in both cases, the first node above each clade was well within the confidence interval; the third MOTU was represented by a single specimen (BAU00778) from Azores.

Diagnostic nucleotides were found for all five MOTUs and are reported under each species in the Systematics part.

DISCUSSION

Both molecular-based approaches highlighted discrepancies with prior morphological attributions. Particularly, specimens morphologically ascribed to *O. aciculata* were shown to represent genetically divergent and phylogenetically distinct MOTUs. As it is known, especially when the splits identified correspond to allopatric subclades, GMYC tends to overestimate the number of species (Tanzler *et al.*, 2012), and particularly the multiple thresholds method shows a general tendency to overestimate the number of clusters (Fujisawa & Barraclough, 2013; Monaghan *et al.*, 2009; Puillandre *et al.* 2012). Therefore, we retained as final species hypotheses those MOTUs that were suggested by both approaches, distance- and tree-based. These were as follows:

Clade A1 – This clade was divided into two subclades by GMYC but the node above the single diverging specimen was well within the confidence interval, and therefore we retain this as a single MOTU. It comprised three specimens from the Aegean Sea, corresponding to a species new to science.

Clade A2 – This clade corresponded – congruently with morphology – to *O. reinai*.

Clade B1 – This clade corresponded – congruently with morphology – to *O. corallinoides*.

Clade B2 – Broadly topotypic specimens of *Murex aciculatus* Lamarck, from Bretagne were in the same MOTU with other specimens from Atlantic coasts of Spain, restricting the known limits of *O. aciculata*. A single specimen (BAU00778) from Azores was remarkably divergent, and suggested by GMYC to represent a distinct MOTU: also in this case, the node above the single diverging specimen was well within the confidence interval, and therefore we conservatively retain B2 as a single MOTU, although it is possible that once enlarging the geographic sampling, the Macaronesian populations turn out to represent an evolutionary significantly distinct lineage.

Clade B3 – Specimens of this clade corresponded to a different species from the Mediterranean Sea, for which the first available name is *Murex corallinus* Scacchi, 1836.

SYSTEMATICS

The Material examined under each species includes the material examined by Crocetta *et al.* (2012) redistributed for *O. corallina* and *O. aciculata*, according to the present results.

Abbreviations: CAS, Chicago Academy of Science (Chicago, Illinois); FCP, Fabio Crocetta private collection (Naples, Italy); FDP, Fabio Daga private collection (Carbonia, Italy); GBP, Giuseppe Bonomolo private collection (Jesi, Italy); GFP, Giuseppe Fasulo private collection (Naples, Italy); MHNG, *Muséum d'Histoire Naturelle de Genève (Genève, Switzerland)*; MNHM, Museo Civico di Storia Naturale (Milano, Italy); MNHN, Muséum national d'Histoire naturelle (Paris, France); MOP, Marco Oliverio private collection (Rome, Italy); MRP, Michele Reina private collection (Palermo, Italy); MSNT, Museo di Storia Naturale (Trieste, Italy); MSNVE, Museo di Storia Naturale (Venezia, Italy); MZN, Museo Zoologico, Centro Museale Università degli Studi di Napoli Federico II (Naples, Italy); NHMUK, The Natural History Museum (London, U.K.); PAP, Paolo Giulio Albano private collection (Bologna, Italy); PSP, Paolo Sordino private collection (Naples, Italy); RHP, Roland Houart private collection (Landen, Belgium); SDP, Sergio Duraccio private collection (Naples, Italy); SZN, Stazione Zoologica Anton Dohrn di Napoli (Naples, Italy); WHP, Winfried Engl private collection (Düsseldorf, Germany).

Terminology used to describe the spiral cords and the apertural denticles (after Merle 2001 and 2005):

Convex part of teleoconch whorl and siphonal canal - ab, abapical (or abapertural); abis, abapical infrasutural secondary cord (on subsutural ramp); ABP, abapertural primary cord on the siphonal canal; ad, adapical (or adapertural); adis, adapical infrasutural secondary cord (on subsutural ramp); ADP, adapertural primary cord on the siphonal canal; IP, infrasutural primary cord (primary cord on subsutural ramp); MP, median primary cord on the siphonal canal; P, primary cord; P1, shoulder cord; P2-P6, primary cords of the convex part of the teleoconch whorl; s, secondary cord; s1-s6, secondary cords of the convex part of the teleoconch whorl (example, s1 = secondary cord between P1 and P2; s2 = secondary cord between P2 and P3, etc.);

Aperture - D1 to D5, abapical denticles; ID, Infrasutural denticle.

Family MURICIDAE Rafinesque, 1815

Subfamily OCENEBRINAE Cossman, 1903

Genus *Ocinebrina* Jousseaume, 1880

TYPE SPECIES. — *Fusus coralinus* [sic!] Scacchi (= *Murex corallinus* Scacchi, 1836) by original designation.

Remarks: Distinction of *Ocenebra* and *Ocinebrina* was largely based on McLean (1996), with the former that would be characterised by the repeated formation of a varix (a thick lip with labial denticles) and the contemporaneous sealing of the siphonal canal. Although Houart (2001) raised doubts on the validity of those morphological characters, he still kept *Ocinebrina* as a separate genus. The two genera are still used and we anticipate that there are molecular data supporting their use (Barco *et al.*, unpublished), although with different scopes compared with current usage. In this view, the definition of the actual identity of the type species of the nominal taxa is of particular relevance. Jousseaume (1880) introduced the new genus *Ocinebrina* with type species “*Fusus corallinus* Scacchi”, a crysonym and incorrect spelling for *Murex corallinus* Scacchi, 1836. According to the present data, Mediterranean specimens corresponding to *Murex corallinus* Scacchi are distinct from the North Atlantic ones ascribed to *Murex aciculatus* Lamarck, and thus represent the actual type species of the genus.

Ocinebrina corallina (Scacchi, 1836)

Murex corallinus Scacchi, 1836: 12.

Fusus acrisius Nardo, 1847: 59-60.

Fusus titii Stossich, 1865: 11.

Murex subaciculatus Locard, 1886: 164.

Type materiél: *Murex corallinus* Scacchi: neotype (MZN Z7010). *Fusus acrisius* Nardo: 13 syntypes (MSNVE 21980). *Fusus titii* Stossich: no type material present in MSNT (A. Colla, pers. comm.). *Murex subaciculatus* Locard: not found.

Type localities: *Murex corallinus* Scacchi: off Cuma (Italy), Mediterranean; *Fusus acrisius* Nardo: Gulf of Venice (Italy), Mediterranean; *Fusus titii* Stossich: northern Adriatic Sea, Mediterranean; *Murex subaciculatus* Locard: Toulon (France), Mediterranean.

Material examined: The available type material and samples from Morocco, Spain, Tunisia, Corsica, Italy, Croatia, Slovenia

France: Corsica, region of Calvi, 1 lv, 1 dd (RHP); Calvi, many lv and dd (RHP)..

Spain: Ceuta, 9 lv (RHP); Ceuta, -80/100 m, fishing nets residuals, 4 lv, 1 dd (MOP); Alboran Is., 35°56'94"N 003°00'90"E, -32 m, bioclastic sands with *Laminaria*, 2 lv 10 dd (MOP); Alboran Is., 35°56'10"N 003°01'48"E, -17 m, bioclastic sands, 10 dd (MOP); Alboran Sea -80/100 m, 4 lv, 10 dd (GBP); Algeciras, Cádiz, 3 lv (RHP); El Alquíán, Almería, Dishers, 3 lv (RHP); Almería, trawlers, 3 lv (GBP); Fuengirola, in fisher nets, 20 lv (RHP); Marbella, 4 lv (RHP); Málaga, -6 m, 2 lv (GBP); Málaga, trawlers, 7 lv, 2 dd (GBP); Algeciras, 2 dd (GFP);

Torremolinos, -2 m, 2 dd (PSP); Adra, Malaga, trawlers - 70 m, 8 lv (GBP); Amella de Mar, low depth, 1 lv (GBP).

Italy: Giglio Island, - 60 m, 5 lv (GBP); Tuscan Archipelago, trawlers, -70/80 m, 4 lv (GBP); Capraia, -50/60 m, 1 lv, 2 dd (GBP); La Maddalena, from fishermen, -50/60 m, 3 lv and 5 dd (GBP); off Alghero, fishing net residuals, -40/80 m, 4 lv 4 dd (MOP); Porto Torres, -40 m, 2 lv (GFP); Giannutri Is., Grottoni (42°15'N, 011°06'E), -47 m, 7 dd (MOP); Ladispoli (Roma), beach, 3 dd (GBP); Fiumicino, trawlers, 3 lv, 2 dd (GBP); off Montalto di Castro, fishing net residuals, -50/60 m, 1 lv (MOP); “Secche di Tor Paterno” Marine Protected Area: Stn R2 (41°36'13"N, 012°20'30"E, *Posidonia oceanica* patches on hard substratum, foliar layer, -24 m); Stns SP4-SP5 (41°36'13"N, 12°20'30"E, *P. oceanica* field on soft substratum, rhizome layer, -26 m) S8, S9: 41°36'18" N - 12°20'30" E, horizontal hard coralligenous substratum with *Eunicella* spp., -25 m, suction sampler, 8 lv used for genetics (SP4-19, R2-03, SP4-15, SP4-13, SP5-03, R2-01, S8-BAU1037, S9-BAU-1042.1); Posillipo, beached, 12 dd (GFP); Secca di Miseno, gill nets, -30 m, 1dd (PSP); Procida Island, shell grit, -2/3 m, 9 dd (PSP), 75 dd (FCP), 94 dd (GFP), 4 dd (SDP), 4 dd (GBP); Vivara Island, -10/15 m, shell grit, 21 dd (FCP); Capri Island, 2 lv, -10 m, shell grit (GFP); Ischia Island, -10 m, 1 dd (PSP); Marina di Puolo, from fishermen, 56 lv and dd (SDP); Li Galli/Vetara, - 39m: 1 dd (SDP); Catanzaro Lido, from fishermen, 2 lv (PSP); Monopoli, beached, 2 dd (PAP); Gallipoli, coralligenous, 4 lv (GFP); Porto Cesareo, from fishermen, 3 lv (PAP); Gallipoli, scuba diving -8/14 m, 1 lv (PAP); Messina, Posidonia meadows -6/7 m, 6 lv (FCP); Messina, from fishermen, -80 m, 2 lv (GBP); Cannizzaro (Catania), - 40/45 m, 4 lv, 6 dd (GBP); Pozzillo, scuba diving - 10/20 m, 1 lv (PAP); Siracusa, 5 lv (RHP), 7 dd (GFP); Acitrezza, -9/19 m, 5 lv (RHP); Brucoli, 8 lv and dd (RHP), 4 dd (GFP); Marettimo Is., -15/40 m, 3 dd (MOP); Favignana Is. -15/30 m, 1 dd (PAP); Golfo di Carini, from fishermen, -50/70 m, 41 lv, 14 dd (GBP); Grado, 3 lv (GBP); Chioggia, 1 lv (RHP), 1 lv (PAP); Lido di Venezia, -28 m, 2 lv, 1 dd (RHP); Falconara Marittima, Ancona, beach, 3 dd (GBP); Silvi Marina, Pescara, 2 dd (GBP); Cupra Marittima, beach, 2 dd (GBP).

Tunisia: Bizerta, 1 lv (GFP).

Malta: St. Julian's Bay, shell grit -15 m, 1 dd (PAP); Wied-iz-Zurrieq, shell grit -36 m, 1 dd (PAP).

Slovenia: Punta Grossa, -2 m, on algae, 4 lv (GBP); Punta Grossa -2/3 m amidst *Cystoseira*, 4 lv (FCP); Portorose, shell grit, 1 dd (GFP).

Croatia: Salvore, from fishermen, 14 lv, 7 dd (GBP); Salvore, from fishermen, -20 m, 2 lv (FCP); Spalato, from fishermen, - 60 m, 2 lv (GBP); Zadar, -1/5 m, under rocks, 2 lv (FCP); Rovinj, from fishermen, 1 lv (PAP).

Distribution: Mediterranean Sea (Houart 2001).

Remarks: We have not assayed genetically specimens from the Adriatic, therefore, the actual identity of *Fusus acrisius* Nardo and *Fusus titii* Stossich as synonyms of *O. corallina* is hypothesized, pending confirmation by genetic data. The same holds for samples from the westernmost Mediterranean (putatively ascribed to *O. corallina*) until the transition area from *O. corallina* to *O. aciculata* is identified. The neotype of *Murex corallinus* Scacchi, 1836 has been designated by Crocetta *et al.* (2012) on a shell of 11.9×6.5 mm from Scacchietello (Baia, Naples) (MZN Z7010). Morphological diagnostic features between *O. corallina* and *O. aciculata* are hardly found, with the possible exceptions of *O. corallina* being usually smaller,

occasionally broader and more cylindrical and with pinkish protoconch and first teleconch whorl (Houart, 2001). Position of diagnostic nucleotides in the alignment: 13 (C), 100 (G), 187 (C), 208 (G), 214 (G), 271 (G), 292 (C), 318 (C), 544 (A), 589 (C).

***Ocenebrina aciculata* (Lamarck, 1822)**

Murex aciculatus Lamarck, 1822: 176.

Murex inconspicuus Sowerby G.B. II, 1841: 5 (67), figs 81.

Murex pistacia Reeve, 1845: plate XXXIV - species 174; Houart, 2001: 70, figs 78-79 (2 syntypes figured).

Ocenebra wardiana Baker, 1891: 134, plate 11: fig. 5; Vokes, 1994: 120, fig. 11 (holotype figured).

Type materiel: *Murex aciculatus* Lamarck: no type material present in MNHN, nor in MHNG (Y. Finet, pers. comm.); *Murex inconspicuus* Sowerby: no type material present in NHMUK (R. Houart, unpublished data); *Murex pistacia* Reeve: three syntypes (NHMUK 1972021); *Ocenebra wardiana* Baker: holotype (CAS 20698);

Type localities: *Murex aciculatus* Lamarck: near Vannes (France), Atlantic Ocean; *Murex inconspicuus* Sowerby: Jersey (English Channel), Atlantic Ocean; *Murex pistacia* Reeve: unknown locality; *Ocenebra wardiana* Baker: erroneously indicated as “Australia”, we correct it as “North Atlantic”.

Material examined: The available type material and shells and specimens from United Kingdom, Portugal, France, Madeira, Azores, Canary Islands, Morocco, Spain.

Channel Islands: Guernsey, 3 lv (RHP).

France: Erquy, on harbour wall at very low tide, 6 lv (RHP), 3 lv, 3 dd (GBP); Le Verdelet, 3 lv (RHP); St. Lunaire, 3 lv (RHP); Roscoff, 5 lv (RHP); Barneville (Normandie), on rocks at low tide, 4 lv (GBP); L'Arcouest, on rocks at low tide, 2 lv (GBP); Paimpol, -15 m among oysters, 2 lv, 2 dd (GBP); Mont S. Michel, beach, 1 dd (GBP).

Spain: Vigo, on rocks, 5 lv (RHP).

Portugal: Amarção de Pera, Fisher boat, 7 lv (RHP); Sagres harbour, 3 lv (RHP), 2 lv (GBP); Olhão, -5/10 m, 3 lv (MOP), 5 lv (GBP); off Ponda da Piedade, Lagos, -45/50 m, octopus trap, 1 lv (MOP) 9 lv (GBP), -50/80 m gill nets, 5 lv (GBP); Vilamoura, low depth, 4 lv (GBP); Catalazede Beach, Oeiras, Lisbona, beach, 9 dd (GBP); Burgau, gill nets on coralline bottom, -45/50 m, 2 lv (GBP).

Azores: Sao Miguel Is., Feteiras, 3 lv (RHP); Fajal Is., Ponta dos Capelinhos, intertidal, 1 dd (MOP).

Madeira: 2 lv, 6 dd (RHP).

Canary Islands: Lanzarote, Arrecife, 1 lv (RHP); Gran Canaria, Las Palmas, 1 lv (RHP); Tenerife, -3 m, 2 lv (GBP).

Morocco: Fedala, 2 dd (RHP); Rabat, 2 lv (RHP); Pointe Imessouane, beached, 1 dd (MOP); Dakhla, Rio de Oro, 5 lv, 1 dd (RHP)

Distribution: Along the North Atlantic European coasts up to Scilly and Channel Islands to the north and at least until Galicia to the south (Houart, 2001).

Remarks: Specimens morphologically similar to *Ocenebrina aciculata* and *O. corallina* are found up to Mauritania and northern Senegal to the south, and in the entire Macaronesia; however, as suggested by the extreme divergence of the specimen BAU00778 from the Azores that may represent an evolutionary significantly distinct lineage, their identity cannot be ascertained without genetically testing. The lack of a clear indication of locality for *Murex pistacia* Reeve and *Ocenebra wardiana* Baker would make it difficult to identify them. We correct the evidently wrong locality of *Ocenebra wardiana* (“Australia”: Baker, 1891: 134, see discussion in Vokes, 1994) to “North Atlantic” (ICZN, 1999: Art 76.A.2) which stabilizes its synonymy with *O. aciculata*. Position of diagnostic nucleotides in the alignment: 79 (C), 109 (A), 130 (G), 641 (C).

***Ocenebrina corallinoides* Pallary, 1912**

(Figures 5B)

Ocenebrina corallinoides Pallary, 1912: 221, plate - fig. 48.

Ocenebrina aciculata exilis Houart, 2001: 62-63, figs 8-9, 167-168, 324-325.

Ocenebrina buzzurroi Cicalupo and Mariani, 2008 in Cicalupo *et al.*, 2008: 90–91, plate 43: figs 1-7.

Type material: *Ocenebrina corallinoides* Pallary: not found; *Ocenebrina aciculata exilis* Houart: MNHN 0362, holotype (9.6 × 3.9 mm); *Ocenebrina buzzurroi* Cicalupo and Mariani: MNHM 33489, holotype (7.2 × 3.2 mm).

Type localities: *Ocenebrina corallinoides* Pallary: near Sfax, Gulf of Gabès (Tunisia); *Ocenebrina aciculata exilis* Houart: NW of Bou Grara Sea, Gulf of Gabès (Tunisia); *Ocenebrina buzzurroi* Cicalupo and Mariani: Borj el Hissar, Kerkennah islands, Gulf of Gabès (Tunisia).

Material examined: The available type material and shells and specimens from the Gulf of Gabès (Tunisia).

Tunisia: Gulf of Gabès: Kerkennah, beach, 4 dd (GFP); Sidi Youssef, beach, 11 dd (SDP), 19 dd (GBP); Sfax, fishing nets residuals, 1 lv (MOP); Borj Djillidj, Djerba, 2 lv (RHP); Bou Grara, littoral, 3 lv (RHP); NW of Bou Grara Sea, -10/15 m, 2 paratypes of *O. aciculata exilis* Houart, 2001 (RHP).

Distribution: Currently known only from the Gulf of Gabès (Tunisia) (Pallary, 1912; Houart, 2001; Cecalupo *et al.*, 2008).

Remarks: Sometimes considered as a subspecies of *O. aciculata* (e.g. Nordsieck, 1968: 120, pl. 19 - fig. 71.11), our genetic data unequivocally indicate that it is a distinct species. Position of diagnostic nucleotides in the alignment: 1 (G), 14 (C), 22 (A), 79 (G), 212 (C), 220 (C), 268 (G), 313 (C), 355 (G), 370 (C), 484 (G), 541 (G), 580 (A).

***Ocinebrina reinai* Bonomolo and Crocetta, 2012**

? *Ocinebrina aciculata corallinoides*. Parenzan, 1970: pag 167, fig. 648.

Ocinebrina helleri. Houart, 2001 (in part): 180, figs 344, 345, 346, 347 only (not *Fusus helleri* Brusina, 1865).

Ocinebrina aciculata. Giannuzzi-Savelli, Pusateri, Palmeri and Ebreo, 2003 (in part): 61, fig. 84 only; Albano and Sabelli, 2009 (in part?): 61 (upper image only?) (not *Murex aciculatus* Lamarck, 1822).

Type material: Holotype: Procida Island, 40°46'N, 014°01' E: MNHN 24566, 1v (9.9×5.1 mm), 40 m depth. Paratypes: A: Procida Island, 40°46'N, 014°01' E, MZN-Z7008, 1 dd (8.8×4.5 mm) and radula and operculum mounted and coated, 40 m depth; B: Gulf of Naples, SZN-MOL 677, 1 dd (9.2×4.9 mm), C. Praus-Franceschini *leg.*; C: Gulf of Naples, SZN-MOL 677, 1 dd (9.1×4.7 mm), C. Praus-Franceschini *leg.*; D: Gulf of Naples, SZN-MOL 686, 1 dd (8.4×4.5 mm), C. Praus-Franceschini *leg.*; E: Gulf of Naples, SZN-MOL 686, 1 dd (8.5×4.3 mm), C. Praus-Franceschini *leg.*; F: Gulf of Naples, SZN-MOL 686, 1 dd (6.1×3.3 mm), C. Praus-Franceschini *leg.*.

Type locality: Procida Island, 40°46'N, 014° 01' E, 40 m depth.

Material examined: The type material and shells and specimens from Italy (Tuscany, Latium, Campania and Sardinia).

Italy: Livorno, 43°33'N, 010°13'E trawler residuals, 1 dd (RHP), 1 dd (WHP); Capraia Island, 43°01'N, 009°51'E, 4 lv, 1 dd (GBP), 1 dd (FCP), 1 dd (MRP), 1 dd (FDP); Montalto di Castro, 42°18'N, 011°33'E, gill nets, 1 lv, 1 dd (GBP); off Ladispoli, gill nets, 3 lv, 1 dd (GBP); "Secche di Tor Paterno" Marine Protected Area: Stn S1 (41°36'21"N, 012°20'28"E, horizontal coralligenous substratum with *Eunicella* spp., -25 m), Stn S22 (41°36'13"N, 012°20'30"E, horizontal coralligenous substratum with rare *Eunicella* spp., -20 m), Stn R2 (41°36'13"N, 012°20'30"E, *Posidonia oceanica* patches on hard substratum, foliar layer, -24 m); Stns SP2-SP3 (41°36'21"N, 012°20'28"E, *P. oceanica* patches on hard substratum, rhizome layer, -26 m), Stns SP4-SP5 (41°36'13"N, 12°20'30"E, *P. oceanica* field on soft substratum, rhizome layer, -26 m) 8 lv used for genetics (SP3-04, R2-02, SP2-04, SP4-17, SP4-18, SP3-02, S1/BAU1038, S22/BAU1039); Pozzuoli, 40°48'N, 014°06'E,

gill nets, 2 lv (PSP); Procida Island, 40°46'N, 014°01'E, snorkelling, in *P. oceanica* patches, 1 lv, (GFP); - 38 m, dredge, 1 dd (GFP); Marina di Puolo, 40°37'N, 014°18'E, gill nets, 2 lv (SDP); Mergellina, 40°49'N, 14°13'E beached, 4 dd (GFP); Capri Island, 40°34'N, 014°12'E, 1 lv, 4 dd (GBP), 2 lv, -10 m, shell grit (GFP); Tavolara Island (Sardinia), 40°54'N, 009°42'E, 1 lv, 1 dd (GBP).

Distribution: Known with certainty from the central Mediterranean Sea, from 43°33' N to 40°34' N and from 010°13' E to 014°12' E.

Remarks: It mainly differs from *O. corallina*, *O. aciculata* and *O. corallinoides* in the dark spots on the ribs, and the differently sized primary and secondary cords and smaller threads. Position of diagnostic nucleotides in the alignment: 40 (T), 52 (A), 172 (G), 190 (G), 202 (C), 206 (C), 223 (G), 352 (A), 562 (A/G), 577 (G), 541 (G), 580 (A).

***Ocinebrina aegensis* Aissaoui, Barco & Oliverio n. sp.**

(Figures 3 A-G; 4 A-C; 5A, 6)

Type materiel: Holotype (IM-2013-32780, 11.8 mm) and two paratypes assayed genetically (IM-2013-32784 8 mm, IM-2013-32787 7.5 mm), and six paratypes not sequenced (IM-2013-32779, 5 mm; IM-2013-32781, 9.5 mm; IM-2013-32782, 8.5 mm; IM-2013-32783, 7 mm; IM-2013-32785, 9 mm; IM-2013-32786, 7.5 mm) from the type locality (all at MNHN, Paris), Kyriakos Papavasileiou leg.

Type locality: Neo Peramos (Greece), Aegean Sea, -40 m.

Material examined: The type material and putative additional samples from Greece and Turkey.

Greece: Saronikos Gulf, from fishermen, 2 dd (GBP). Turkey: Tenedos (Bozcaada), from fishermen, - 60 m, 3 lv (GBP).

Distribution: Only known with certainty from the type locality. We assume that the Eastern Mediterranean population of *O. corallina*-like small mussel drills belong to the new species (see Material examined), which needs to be tested genetically.

Description: (*in parentheses data of the holotype*). Shell of medium size for the genus, length 7.5-11.8 mm, fusiform and solid. Protoconch (IM-2013-32781) paucispiral of 1.25, barely keeled, slender whorls, corroded in the types with only traces of a microsculpture of small granules. Teleoconch uniformly pinkish or pale orangeish of 4-5 (5) convex whorls, slightly elongate and rounded, with last whorl about $\frac{3}{4}$ of total height. Suture impressed. Spiral sculpture of 6 low, weakly squamose and rounded primary cords and approximately equally sized secondary cords.

P1 and P2 starting in the early teleoconch, IP at half of the first teleoconch whorl, s1, s2 and abis at half of the second teleoconch whorl. Last teleoconch whorl with adis, IP, abis, P1, s1, P2, s2, P3, s3, P4, s4, P5, s5, P6, ADP, MP, ABP, abs. Primary and secondary cords approximately of same strength, except s4 and s5 slightly narrower. Axial sculpture of 11–13 (11) low, weak, broad, rounded ribs on all whorls. Outer lip weakly crenulate and with 7–8 (8) internal denticles, usually ID, D1–D6 (D6 usually split); a labral tooth not observed.

Labral varix nodose, narrow and rounded. Columellar lip expanded ventrally, smooth, adherent apically and erect abapically. Aperture relatively narrow, elongate-ovate, pinkish to whitish coloured inside. Siphonal canal short, narrow, straight, ventrally sealed. Animal reddish. Operculum corneous from pale to dark brown, D-shaped/ovate, with subterminal nucleus surrounded by many concentric ridges.

Radula (IM-2013-32786): sickle-shaped lateral teeth with a slightly broader base, rachidian bearing a short and thick central cusp and longer and thick lateral cusps with a short and thick inner lateral denticle on each side of the base. Marginal area with short denticles and a thick and short marginal cusp.

Remarks: *O. aegensis* n. sp. is very similar to the other species of the complex. A labral tooth has not been observed in the limited material examined, but we cannot exclude that the study of additional samples may reveal this feature in some specimens. Very subtle differences can be found comparing with the species of the complex: *Ocinebrina aciculata* and *O. corallina* differ in their more bulbous, dome-shaped protoconch (v. slender in *O. aegensis* n. sp.); *Ocinebrina reinai* has also a more bulbous protoconch and a spiral sculpture with secondary cordlets of smaller size (v. all spirals of same size in *O. aegensis* n. sp.); *O. corallinoides* has a more slender shell. From all species *O. aegensis* n. sp. can be separated molecularly by the diagnostic nucleotides in the COI alignment: 70 (G), 263 (T), 376 (G), 539 (C).

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Kyriakos Papavasileiou (collector of the types of *O. aegensis* sp. n.), Jean-Louis Deleamarre (Saint-Nazaire, France), Christiane Delongueville and Roland Scaillet (Brussels, Belgium), and Emilio Rolán (Vigo, Spain) for material provided.

REFERENCES

- ALBANO, P.G. & SABELLI, B. 2009. *I Molluschi delle secche di Tor Paterno*. Gli studi e le guide di RomaNatura, 2. Ente Regionale RomaNatura, Roma.
- BAKER, F.C. 1891. Descriptions of new species of Muricidae, with remarks on the apices of certain forms. *Proceedings of the Rochester Academy of Science*, **1**: 129-137.
- BARCO, A., HOUART, R., BONOMOLO, G., CROCETTA, F. & OLIVERIO, M. 2013. Molecular data reveal cryptic lineages within the northeastern Atlantic and Mediterranean small mussel drills of the *Ocenebrina edwardsii* complex (Mollusca: Gastropoda: Muricidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, **169**: 389-407.
- BARCO, A., RAUPACH, M., LAAKMANN, S., NEUMANN, H. & KNEBELSBERGER, T. 2016. Identification of North Sea molluscs with DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources* **16**: 288-297.
- BARCO *et al.*, unpublished.,
- BROWN, S.D.J., COLLINS, R.A., BOYER, S. *et al.* 2012. Spider: An R package for the analysis of species identity and evolution, with particular reference to DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources*, **12**: 562-565
- BRUSINA, S. 1865. Conchiglie dalmate inedite. *Verhandlungen der Kaiserlich-Königlichen Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien*, **15**: 3-42.
- CECALUPO, A., BUZZURRO, G. & MARIANI, M. 2008. Contributo alla conoscenza della malacofauna del Golfo di Gabès (Tunisia). *Quaderni della Civica Stazione Idrobiologica di Milano*, **31**: 1-267.
- COSSMANN, M. 1903. *Essais de paléoconchologie comparée*, Vol. 5, 215–215. Paris: M. Cossmann. 9 pl
- CROCETTA F., BONOMOLO, G., ALBANO, P.G., BARCO, A., HOUART, R. & OLIVERIO, M. 2012. The status of the northeastern Atlantic and Mediterranean small mussel drills of the *Ocenebrina aciculata* complex (Mollusca: Gastropoda: Muricidae), with the description of a new species. *Scientia Marina*, **76**: 177–189.
- DRUMMOND, A.J. & RAMBAUT, A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, **7**: 214.
- EZARD, T., FUJISAWA, T. & BARRACLOUGH, T.G. 2009. Splits: species' limits by threshold statistics. Available at: <http://R-Forge.R-project.org/projects/splits/>
- FOLMER, O., BLACK, M., HOEH, W., LUTZ, R. & VRIJENHOEK, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, **3**: 294-299.

- FUJISAWA, T. & BARRACLOUGH, T.G. 2013. Delimiting species using single-locus data and the generalized mixed Yule coalescent approach: A revised method and evaluation on simulated data sets. *Systematic Biology* **62**:707–724.
- GIANNUZZI-SAVELLI, R., PUSATERI, F., PALMERI, A. & EBREO, C. 2003. *Atlante delle conchiglie marine del Mediterraneo. Vol. 4 (Neogastropoda: Muricoidea)*. Edizioni Evolver, Roma, 298 pp.
- HARDING, J.M., KINGSLEY-SMITH, P., SAVINI, D. & MANN, R. 2007. Comparison of predation signatures left by Atlantic oyster drills (*Urosalpinx cinerea* Say, Muricidae) and veined rapa whelks (*Rapana venosa* Valenciennes, Muricidae) in bivalve prey. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **352**: 1–11.
- HOUART, R. 2001. *A review of the recent Mediterranean and Northeastern Atlantic species of Muricidae*. Edizioni Evolver, Roma.
- JOUSSEAUME, F.P. 1880. Division méthodique de la famille des Purpuridae. *Le Naturaliste: journal des échanges et des nouvelles*, **2**: 335-336.
- LAMARCK, J.B.M. 1822. *Histoire naturelle des animaux sans vertèbres, présentant les caractères généraux et particuliers de ces animaux, leur distribution, leurs classes, leurs familles, leurs genres, et la citation des principales espèces qui s'y rapportent; précédée d'une introduction offrant la détermination des caractères essentiels de l'animal, sa distinction du végétal et des autres corps naturels; enfin, l'exposition des principes fondamentaux de la zoologie. Vol. 7*. Paris.
- LOCARD, A. 1886. *Prodrome de malacologie française. Vol. 2. Catalogue general des Mollusques vivants de France. Mollusques marins*. Librairie Henri Georg, Lyon.
- MCLEAN, J.H. 1996. The Prosobranchia. In: *Taxonomic Atlas of the Benthic Fauna of the Santa Maria Basin and Western Santa Barbara Channel. The Mollusca Part 2 – The Gastropoda*. Santa Barbara Museum of Natural History. Vol. **9**: 1-160.
- MERLE, D. 2001. The spiral cords and the internal denticles of the outer lip in the Muricidae: terminology and methodological comments. *Novapex*, **2**: 69-91.
- MERLE, D. 2005. The spiral cords of the Muricidae (Gastropoda, Neogastropoda): importance of ontogenetic and topological correspondences for delineating structural homologies. *Lethaia*, **38**: 367-379.
- MONAGHAN, M.T., WILD, R., ELLIOT, M., FUJISAWA, T., BALKE, M., INWARD, D.J.G., LEES, D.C., RANAIVOSOLO, R., EGGLETON, P., BARRACLOUGH, T.G., VOGLER, A.P. 2009. Accelerated species inventory on Madagascar using coalescent-based models of species delineation. *Systematic Biology* **58**: 298–311.

- MONTEROSATO, T. di MARIA 1884. *Nomenclatura generica e specifica di alcune conchiglie mediterranee*. Stabilimento Tipografico Virzi, Palermo.
- MORTON, B. 1999. Competitive grazers and the predatory whelk *Lepsiella flindersi* (Gastropoda: Muricidae) structure a mussel bed (*Xenostrobus pulex*) on a southwest Australian shore. *Journal of Molluscan Studies*, **65**: 435–452.
- MORTON, B. 2004. Predator-prey interactions between *Lepsiella vinosa* (Gastropoda: Muricidae) and *Xenostrobus inconstans* (Bivalvia: Mytilidae) in a southwest Australian marsh. *Journal of Molluscan Studies* **70**: 237–245
- NARDO, G.D. 1847. *Sinonimia moderna delle specie registrate nell' opera intitolata: Descrizione de' crostacei, de' testacei e de' pesci che abitano le lagune e golfo veneto, rappresentati in figure, a chiaro-scuro ed a colori dall' Abate Stefano Chiareghini Ven. Clodiense*. Venezia.
- NORDSIECK, F. 1968. *Die europäischen Meeres-Gehäuseschnecken (Prosobranchia)*. G. Fischer, Stuttgart.
- OLIVERIO, M. & MARIOTTINI, P. 2001. A molecular framework for the phylogeny of *Coralliophila* and related muricoids. *Journal of Molluscan Studies*, **67**: 215–224.
- PALLARY, P. 1912. Sur la faune de l'ancienne lagune de Tunis. *Bulletin de la Société d'histoire naturelle d'Afrique du Nord*, **3**: 215–228.
- PARENZAN, P. 1970. *Carta d'identità delle conchiglie del Mediterraneo I vol.: Gasteropodi*. Bio Taras Editrice, Taranto.
- PAYRAUDEAU, B.C. 1826. *Catalogue descriptif et méthodique des Annélides et des Mollusques de l'île de Corse*. Paris, 218 pp.
- PEHARDA, M. & MORTON, B. 2005. Experimental prey species preferences of *Hexaplex trunculus* (Gastropoda: Muricidae) and predator-prey interactions with the black mussel *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia: Mytilidae). *Marine Biology*, **148**: 1011–1019
- PONS, J., BARRACLOUGH, T.G., GOMEZ-ZURITA, J., CARDOSO, A., DURAN, D.P., HAZELL, S., KAMOUN, S., SUMLIN, W.D. & VOGLER, A.P. 2006. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, **55**: 595–609.
- PUILLANDRE, N., MODICA, M.V., ZHANG, Y., SIROVICH, L., BOISSELIER, M.C., CRUAUD, C., HOLFORD, M. & SAMADI, S. 2012. Large-scale species delimitation method for hyperdiverse groups. *Molecular Ecology*, **21**: 2671–2691

- RAFINESQUE, G.S. 1815. *Analyse de la nature ou tableau de l'univers et des et de Corps Organises*. Palermo, 224 pp.
- RAMBAUT, A. & DRUMMOND, A.J. 2003. Tracer v. 1.5.0. Available at: <http://evolve.zoo.ox.ac.uk/software/>
- REEVE, L.A. 1845. *Conchologia Iconica, or, illustrations of the shells of Molluscan animals*. Vol. 3. London.
- SCACCHI, A. 1836. *Catalogus Conchyliorum Regni Neapolitani quae usque adhuc reperit A. Scacchi*. Typis Filiatre-Sebetii, Neapoli.
- SETTEPASSI, F. 1977. *Atlante Malacologico dei Molluschi marini viventi nel Mediterraneo. II. Gasteropodi*. Roma.
- SOWERBY, G.B. II. 1832-1841. *The conchological illustrations, or coloured figures of all the hitherto unfigured Recent shells*. London.
- STOSSICH, A. 1865. Enumerazione dei Molluschi del Golfo di Trieste. *Programma della Civica Scuola reale sup. di Trieste*, **1865**: 21–58.
- TAMURA, K., STECHER, G., PETERSON, D., FILIPSKI, A. & KUMAR, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, **30**: 2725-2729.
- TANZLER, R., SAGATA, K., SURBAKTI, S., BALKE, M. & RIEDEL, A. 2012. DNABarcoding for community ecology - How to tackle a hyperdiverse, mostly undescribed melanesian fauna. *PLoS One*, **7**: e28832.
- VOKES, E.H. 1994. The muricid types of Frank Collins Baker. *The Nautilus*, **107**: 118-123.

Table 1. List of the examined material with collection localities, ID codes for vouchers (BAU: Department of Biology and Biodiversity, “Sapienza” University of Rome; MNHN: Museum National d’Histoire Naturelle, Paris; MZB: Museum of Zoology, University of Bologna) and GenBank accession numbers for the sequences. N indicates the collecting locality number in Figure 1.

Species	Voucher codes	N	Sampling site	accession number
			Noreste, São Miguel Is.,	
<i>Ocenebrina aciculata</i>	BAU00778	1	Azores, Portugal	XXXXXXXX
<i>Ocenebrina aciculata</i>	BAU00964.1, 3-5, 7-9	2	Vigo, Spain	XXXXXXXX-XXXXXXXX KF199911-KF199917,
<i>Ocenebrina aciculata</i>	BAU01060.1-8	3	Baiona, Spain	XXXXXXXX
<i>Ocenebrina aciculata</i>	BAU01658.1-3	3	Brittany, France	XXXXXXXX-XXXXXXXX
<i>Ocenebrina corallina</i>	BAU01037	6	Secche di Tor Paterno, Italy	FR851899
<i>Ocenebrina corallina</i>	BAU01042.1	6	Secche di Tor Paterno, Italy	FR851901
<i>Ocenebrina corallina</i>	BAU01304.1-3	5	Giannutri Is., Italy	XXXXXXXX-XXXXXXXX
	MZB-R2.01, MZB-R2.03, MZB-SP4.13, MZB-SP4.15, MZB-SP4.19, MZB- SP5.03	6	Secche di Tor Paterno, Italy	FR85190, FR851902-FR850906
<i>Ocenebrina corallina</i>	MNHN-IM2013-31799-1, MNHN-IM2013-31799-2,			
<i>Ocenebrina corallinoides</i>	BAU02376	7	Gabés, Tunisia	XXXXXXXX-XXXXXXXX
	BAU01038, BAU01039, MZB-R2.02, MZB-SP2.04, MZB- SP3.02, MZB-SP3.04, MZB-SP4.17,			
<i>Ocenebrina reinai</i>	MZB-SP4.18	6	Secche di Tor Paterno, Italy	FR851907-FR851914
	MNHN-IM2013-32780, MNHN-IM2013-32784,			
<i>Ocenebrina aegensis</i>	MNHN-IM2013-32787	8	Néa Péramos, Greece	XXXXXXXX-XXXXXXXX

Table 2. Genetic distances (K2p) within and between species.

	mean intraspecific distance	mean intespecific distance			
		<i>O. aciculata</i>	<i>O. corallina</i>	<i>O. corallinoides</i>	<i>O. reinai</i>
<i>O. aciculata</i>	0.006				
<i>O. corallina</i>	0.002	0.048			
<i>O. corallinoides</i>	0.002	0.047	0.056		
<i>O. reinai</i>	0.002	0.063	0.074	0.070	
<i>O. aegensis</i>	0.019	0.062	0.069	0.075	0.043



Figure 1. MAP of the collecting sites. Numbers as in Table I.

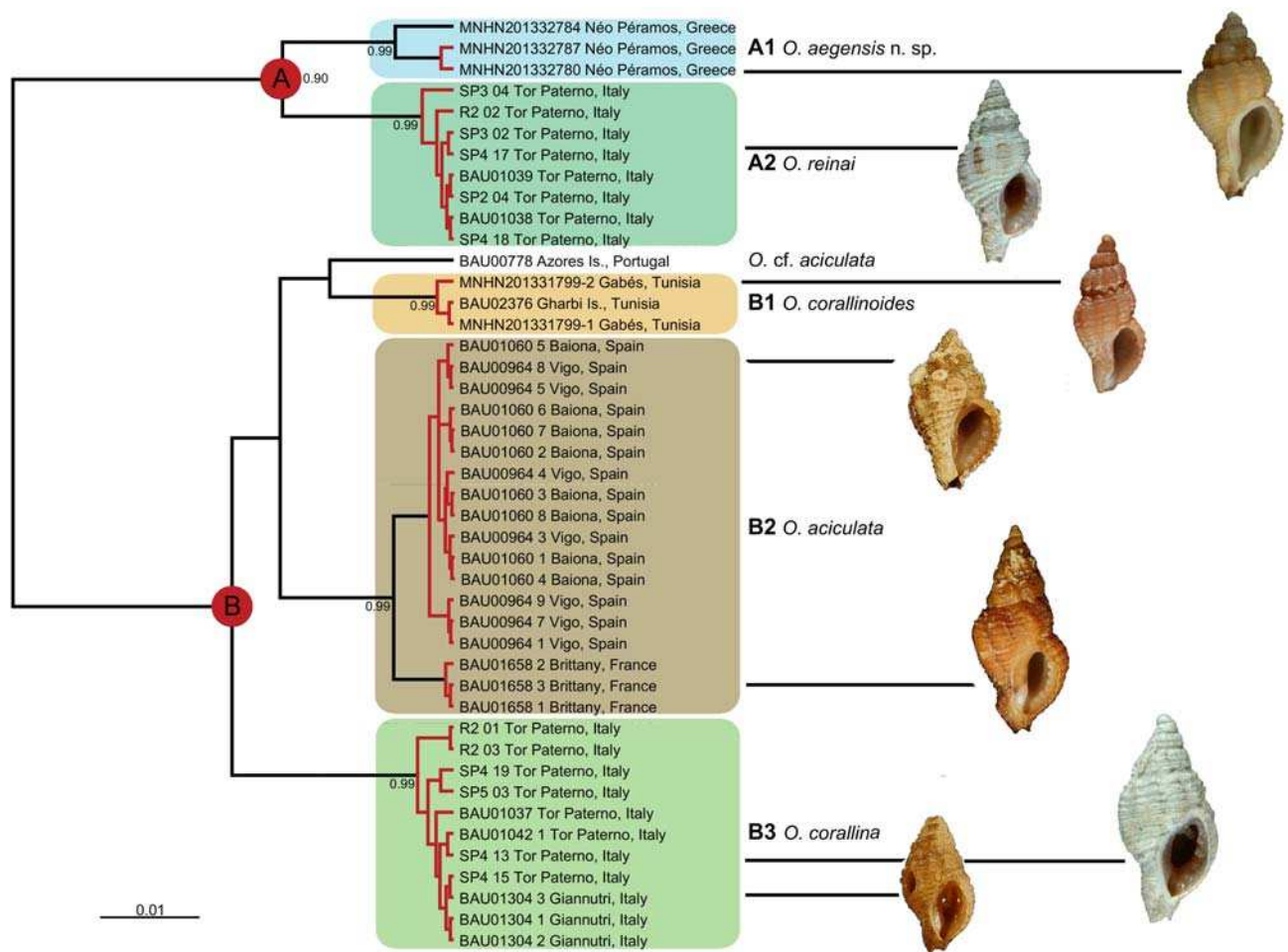


Figure 2. Phylogenetic relationships among the assayed specimens. Ultrametric tree obtained as consensus of 10^4 topologies from the BEAST analysis. Molecular Operational Taxonomic Units (MOTUs) as defined by Generalized Mixed Yule-Coalescent method (GMYC) are evidenced as red branches; MOTUs consistently identified by distance- and tree-based methods (A1-B3) are enclosed in squares. Posterior supports >0.95 are reported and only for the nodes subtending the MOTUs. Representative shells of vouchers not to scale.

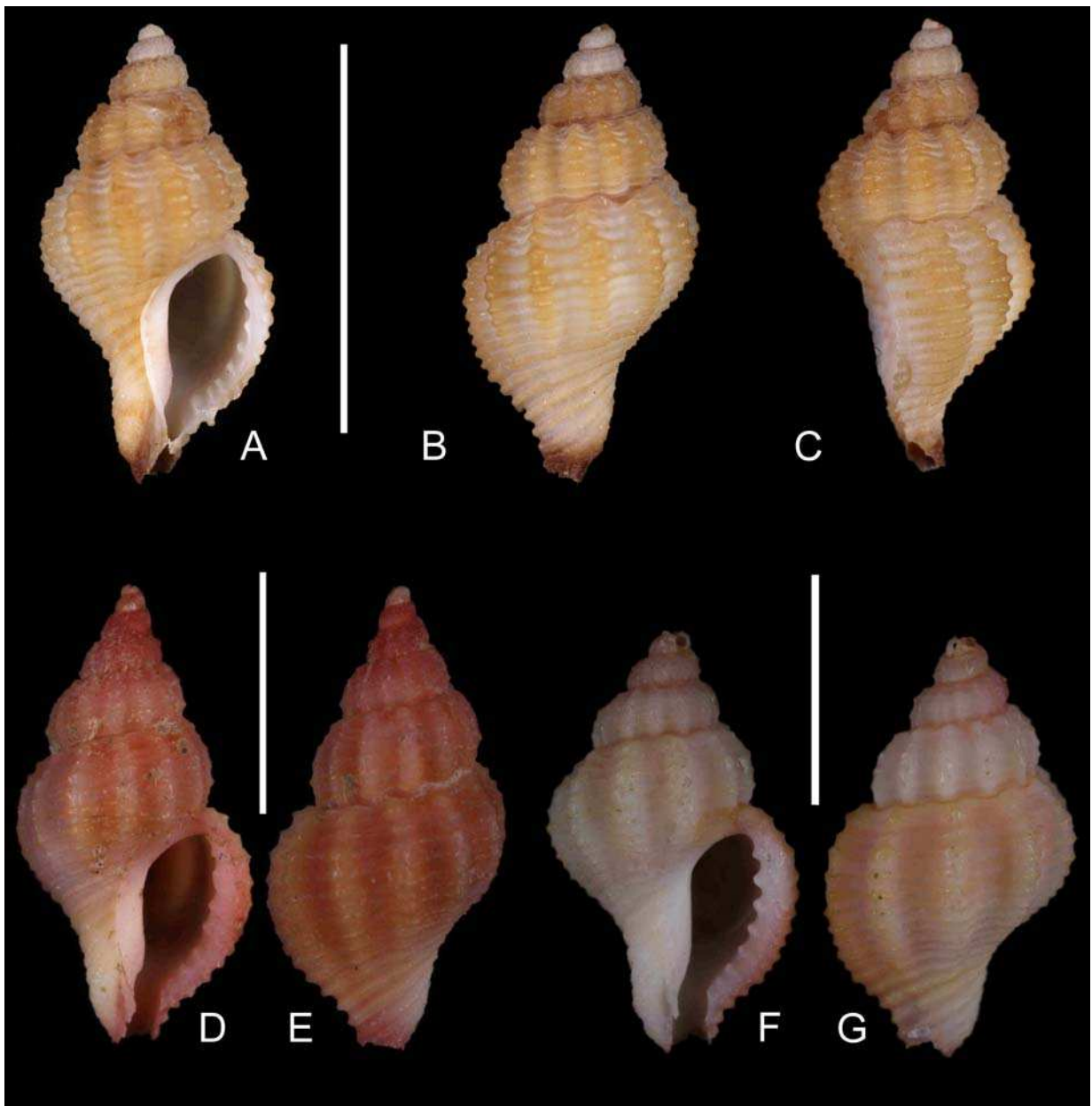


Figure 3. *Ocinebrina aegensis* n. sp., Néa Péramos (Greece). A-C: Holotype (IM-2013-32780, 11.8 mm). D, E: paratype (IM-2013-32784 8 mm). F, G: paratype (IM-2013-32787 7.5 mm).

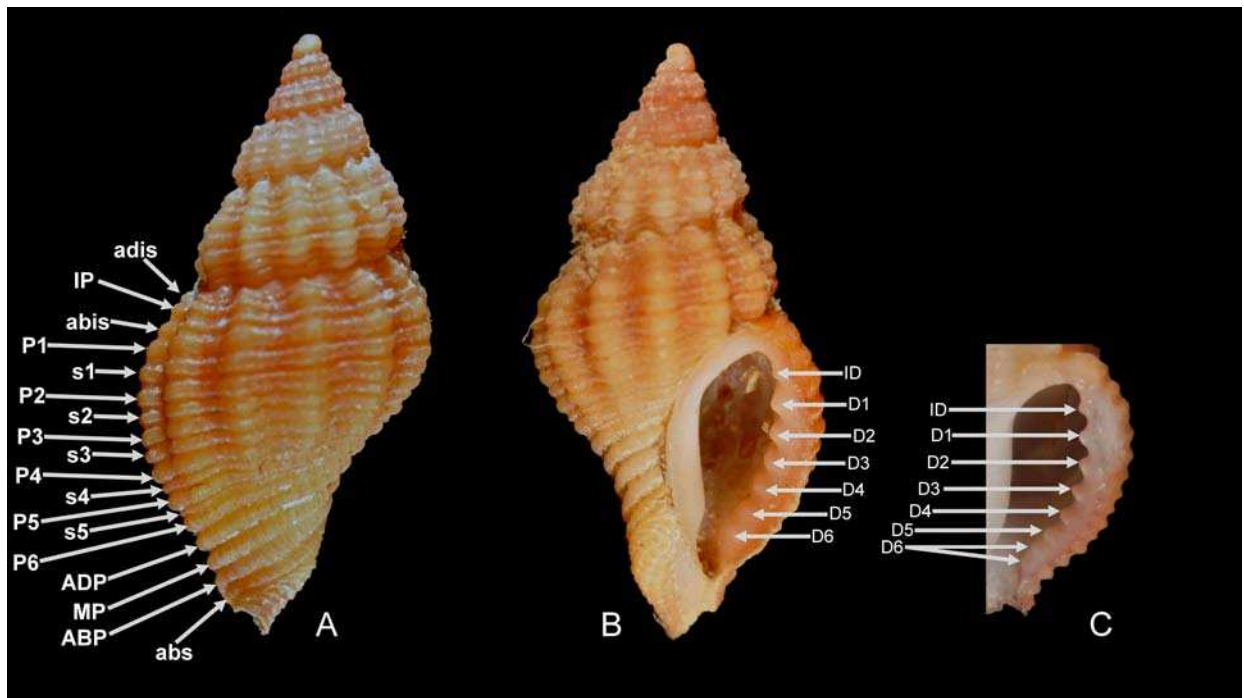


Figure 4. *Ocinebrina aegensis* n. sp., Néa Péramos (Greece). Abbreviations for sculptural terminology (after Merle 2001 and 2005), see text. A-B: paratype (IM-2013-32781 9.5 mm). C: aperture of paratype (IM-2013-32787 7.5 mm).

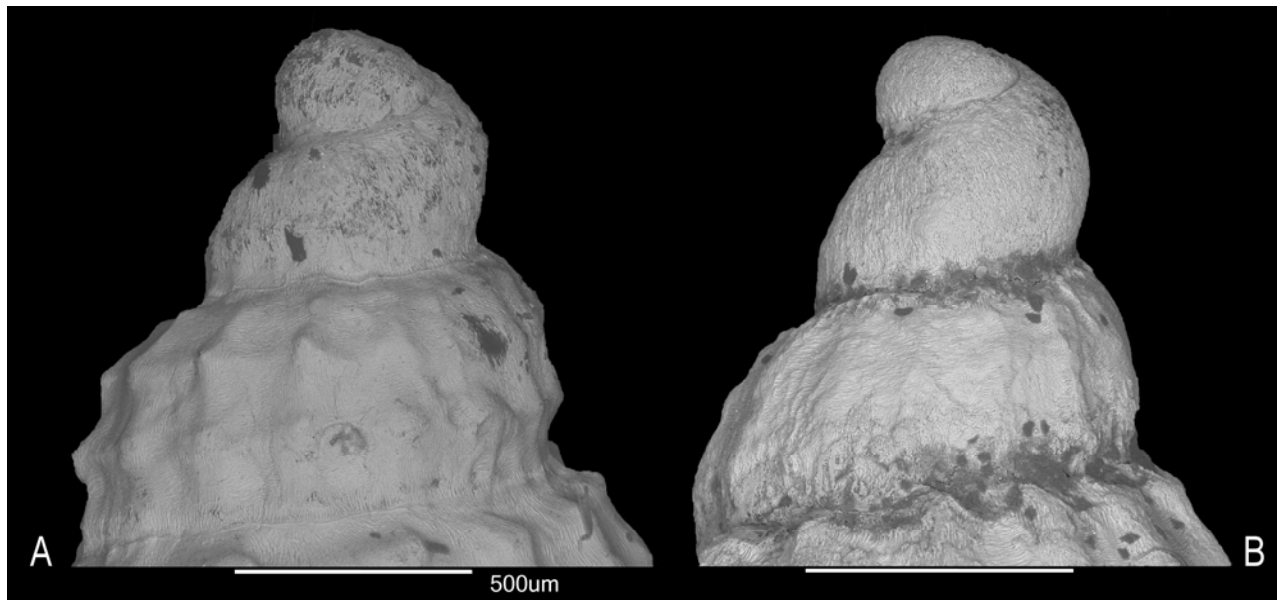


Figure 5. Protoconch. A. *Ocinebrina aegensis* n. sp. Néa Péramos (Greece), paratype (IM-2013-32781). B. *Ocinebrina corallinoides*, Djerba (Tunisia). Scale bars 500 µm.

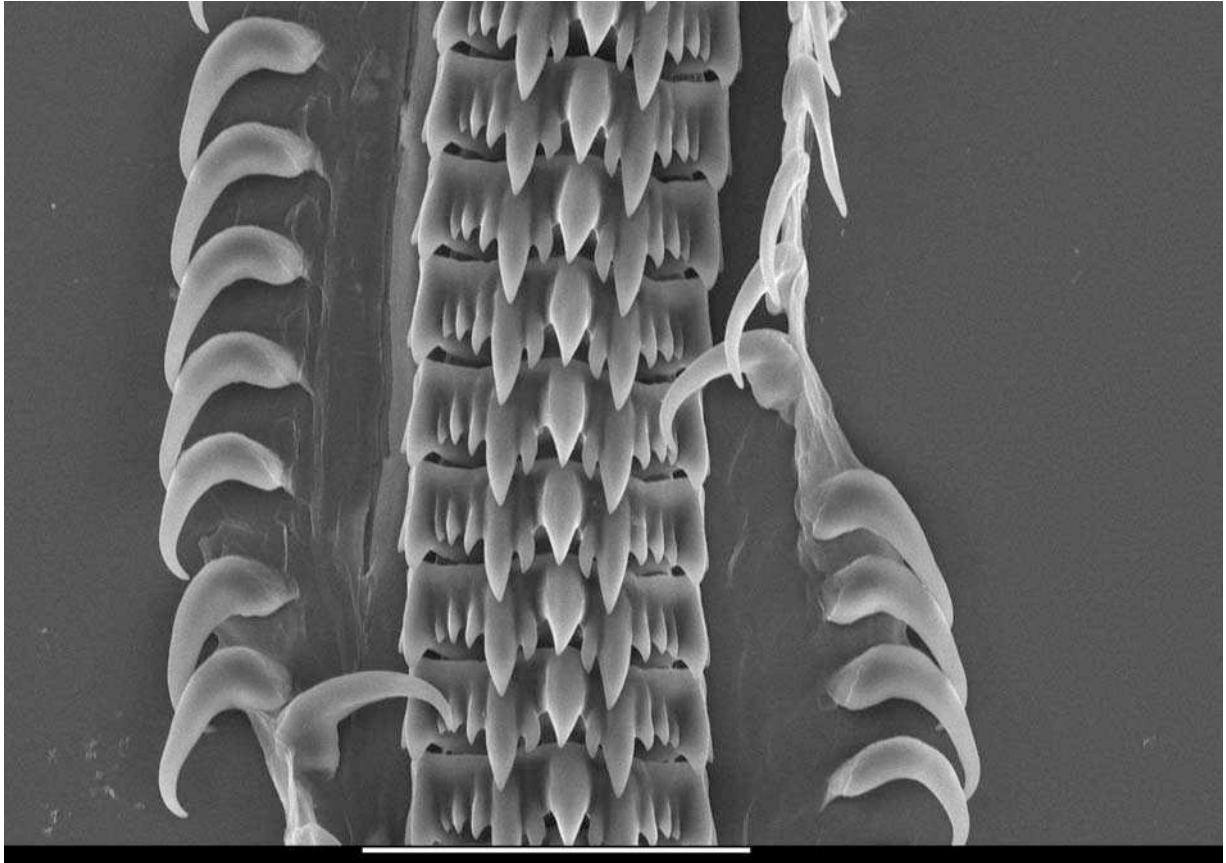


Figure 6. Radula of *Ocinebrina aegensis* n. sp., Neo Peramos (Greece), paratype (IM-2013-32786). Scale bar 100 μ m.

6.2. Le genre *Muricopsis* (Muricopsinae)

Le genre *Muricopsis* (Brocchi, 1814) est largement distribué. Il se rencontre en Méditerranée et au Nord de l'Atlantique. Il comprend 23 espèces vivantes acceptées (Worms 2016). L'espèce la plus commune dans ce genre est *Muricopsis cristata* (Brocchi, 1814) de Méditerranée. Cette espèce est très variable et il existe plusieurs noms pour distinguer différentes formes dont le statut a été longuement débattu (Houart 2001). En Méditerranée, le complexe *Muricopsis cristata* inclut traditionnellement 4 espèces reconnues par les malacologistes: *Muricopsis cristata* (Brocchi, 1814), *Muricopsis inermis* (Philippi, 1836), *Murex bicolor* Monterosato, 1878, et *Muricopsis cevikeri* Houart, 2000. Parmi ces espèces la seule reconnue dans le golfe de Gabès est *Muricopsis cristata* (Monterosato 1880). Une cinquième espèce a été décrite récemment comme endémique de Gabès par Cecalupo *et al.* 2008 (*Muricopsis ghizottii* Cecalupo & Buzzurro, 2008). Enfin, deux variétés ont été aussi recensé dans cette région : (*Muricopsis blainvillei* var. *hirsuta* (Pallary, 1904) [*Ocinebrina*]; *Muricopsis blainvillei* var. *gracilis* Monterosato, 1870 (Dautzenberg 1883, Pallary 1904) Dans le présent travail nous avons testé génétiquement différentes populations méditerranéennes reconnues comme *Muricopsis cristata* appartenant aux deux bassins (dont le golfe de Gabès) en utilisant deux marqueurs génétiques. L'objectif principal de cette étude est : (1) détecter l'existence éventuelle de différentes lignées à l'intérieur et à l'extérieur du golfe de Gabès (2) et discuter la validité de certains taxons nominaux reconnus.

6.1.1 Matériel et méthodes

- Echantillonnage, identification, obtention d'ADN et séquençage

34 spécimens de différentes localités de la Méditerranée (Fig. 14) ont été récoltés et fixés dans un alcool de 95%. L'identification morphologique de tous les spécimens a été réalisée par les taxonomistes Gianni Spada puis Marco Oliverio.

Les ADN totaux sont extraits, à partir du pied des individus, avec la station d'extraction et de purification semi-automatique ABI PRISM™ 6100 Nucleic Acid Prep Station, selon les indications du fabricant. Un fragment des gènes mitochondrial COI (650 pb) et nucléaire 28S (700 pb) sont amplifiés à partir des amorces universelles LCOI1490 et HCO2198 (Folmer *et al.* 1994), C1 et D2 (Jovelín & Justine 2001). L'amplification des ADN totaux via des réactions de polymérisation en chaîne (PCR : Polymerase Chain Reaction) *in vitro* est réalisée dans un volume final de 25 µl, contenant approximativement 2,5 mM de MgCl₂, 0,26 mM de chaque nucléotide, 0,3 µM de chaque amorce, 5% de DMSO et 1,5 unités de Q-Bio Taq, (QBiogene). Les produits de l'amplification sont générés par une étape de dénaturation

initiale de 4 minutes à 94°C, suivie de 45 cycles de 30 secondes de dénaturation à 94°C, 40 secondes d'hybridation à 48°C pour le gène COI et à 60°C pour les gènes 28S et 1 minute d'élongation à 72°C. Le séquençage dans les deux sens des résultats de l'amplification est réalisé par Eurofins (Paris, France). Les séquences sont nettoyées manuellement à l'aide du logiciel BioEdit version 7.0.5.3 (Larkin *et al.* 2007). L'alignement des séquences est réalisé à l'aide du programme ClustalX (Thompson *et al.* 1997) implémenté dans BioEdit.

- Analyse phylogénétique

36 séquences de COI (658 pb) ont été obtenues y compris une seule séquence de Gen bank (FN651943.1). La délimitation des espèces est effectuée par la méthode ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery method, Puillandre *et al.* 2012; <http://wwwabi.snv.jussieu.fr/public/abgd/>) en utilisant les paramètres par défauts. Ensuite, afin de tester la monophylie des groupes génétiques définis par l'ABGD une analyse basée sur la méthode d'inférence Bayésienne est réalisée à l'aide du logiciel MrBayes 3.2 (Ronquist and Huelsenbeck 2003). Les paramètres choisis pour cette analyse sont de 30 000 000 de générations, la température est 0.2 et la fréquence d'échantillonnage est de 1 sur 100. La convergence des analyses est contrôlée par le logiciel Tracer 1.4.1 (Rambaut & Drummond 2007). L'arbre consensus majoritaire et la distribution des probabilités postérieures (PP) des arbres sont calculés à partir de l'ensemble des arbres, après élimination des premières générations (25% de l'échantillonnage). Pour tous les jeux de données analysés, un même modèle d'évolution nucléotidique a été utilisé (GTR+G+I). L'arbre est enraciné par deux out groupes (*Ocenebrina hispidula* et *Hexaplex trunculus*). Les groupes génétiques soutenus (Molecular Operative Taxonomic Units; MOTUs) seront rattachés provisoirement à des noms d'espèces disponibles ou à décrire. Enfin, les résultats génétiques sont confrontés à une approche de taxonomie classique, indépendante pour l'ensemble des individus.

6.2.2 Résultats et discussion

- Hypothèse de délimitation d'espèces

L'examen morphologique réalisé sur tous les individus récoltés sur l'ensemble des aires échantillonnées sont tous attribués préalablement à un seul morpho-groupe: *Muricopsis cristata*.

Le gène COI de tous les spécimens a été analysé (Fig. 15). 5 MOTUs sont bien délimités par la méthode (ABGD), bien soutenus et réciproquement monophylétiques dans l'analyse bayésienne (PP> 95). Les MOTUs 1 et 4 contiennent des séquences des spécimens récoltés dans le nord de la mer Egée (Grèce) dans deux sites très proches. La première à Halkidiki,

Marmaros et la deuxième dans l'île de Astypalea. Ces deux clades sont bien différenciés génétiquement des clades précédents et divergent entre eux d'une distance de 3%. Les MOTUs 2 (PP=) et 5 (PP=) présentent des spécimens récoltés en sympatrie dans le golfe de Gabès. La distance génétique entre eux est supérieure à 5 %. La MOTU 3 (PP= 99) contient des séquences des spécimens récoltés dans le sud de la France mais aussi de *Muricopsis cristata* récoltée au Nord de l'Italie (Séquence de GenBank).

- Attribution des noms d'espèces

La confrontation des caractères morphologiques aux caractères moléculaires montre que les variations morphologiques des coquilles ne permettent pas toujours de retrouver les MOTUs définies à l'aide des caractères moléculaires car les caractères morphologiques sont souvent variables au sein des MOTUs. Ils doivent donc être manipulés avec prudence pour proposer des hypothèses primaires de délimitation d'espèces. Nos analyses mettent ainsi en évidence un cas potentiel d'espèces cryptiques. En effet, en considérant seulement les caractères morphologiques, une partie des spécimens du golfe de Gabès avaient été attribués par les taxonomistes à une seule espèce. Cependant, nos analyses révèlent que ces spécimens correspondent à deux MOTUs génétiques distinctes (MOTU 2 et MOTU 4) sur deux gènes indépendants.

Dans un seul cas, nous avons attribué sans ambiguïté le nom *Murexsul cevikeri* au MOTU 1 mises en évidence par nos analyses moléculaire car il contient un spécimen collecté dans la localité type de cette espèce. Cette espèce décrite par Houart (2000) a été classée temporairement dans le genre *Muricopsis* puis son statut a été stabilisé par le même auteur et déplacé dans le genre *Murexsul* (Worms 2016). Elle a été trouvée pour la première fois dans la mer Egée et attribuer à une autre espèce [*Ocenebrina hybrida*] par Tenekides en 1989. La distribution géographique de cette espèce recouvre actuellement le bassin oriental de la Méditerranée, plus particulièrement, à l'Ouest de la Turquie (golfe d'Iskenderun) et la mer Egée (Senikos, Halkidiki, Astypalea). Morphologiquement, *Murexsul cevikeri* se caractérise par des varices rondes et se distingue de *M. cristata* par le nombre de cordons spiraux primaires: (dans les premiers tours le nombre des cordons varie entre 1 et 2 chez *M. cevikeri* et 3 cordons chez *M. cristata*. On compte sur le dernier tour *M. cevikeri* 4 cordons alors que chez *M. cristata* le nombre est souvent de 5 et rarement 6).

Pour les autres MOTUs, leur attribution à des noms d'espèces reste difficile à établir car on ne peut pas se baser sur les caractères morphologiques. Une alternative, est de comparer les individus à identifier avec des individus qui ressemblent au spécimen type et qui ont été récoltés dans la localité type (ou proche) de l'espèce. C'est cette approche qui a été

effectuée pour les individus de la MOTU 3. Cette MOTU a été décrite à partir de spécimens récoltés au Sud de la France (La Ciotat « Figuerolle »). Il a été possible de comparer notre groupe de spécimens séquencés à la description originale *M. inermis* et ainsi de confirmer leur appartenance à ce taxon. Cette espèce se caractérise par une coquille de petite taille, sans épines, ce qui est conforme à nos spécimens. Ce clade est génétiquement inséparable d'un spécimen récolté à San Pietro (Sud de Sardaigne, Italie) ce qui prouve que l'aire de distribution de cette espèce couvre au moins une partie de la Méditerranée occidentale. Il est fondamental pour poursuivre ce travail d'inclure des spécimens de la localité type de *M. cristata* (Venise, Adriatique, Nord de L'Italie) afin de les comparer à nos MOTUs.

L'approche morphologique est très délicate dans le cas d'espèces à coquilles très proches et vivant en sympatrie (Fig. 16). C'est notamment le cas ici pour deux groupes d'individus, récoltés à Djerba (golfe de Gabès), génétiquement bien différenciés (MOTU 2 et MOTU 5), mais qui présentent une morphologie de coquille très proche. Les noms d'espèces *M. gracilis* (localité type : Sfax, Gabès) et *M. hirsuta* (localité type: Djerba, golfe de Gabès) pourraient correspondre à nos deux groupes génétiques. *M. gracilis* a été recensée dans le golfe de Gabès par Monterosato 1870, puis par plusieurs malacologistes (BDD 1882, Pallary 1904, Praus 1906). Selon la description originale, cette espèce est « très allongée avec des varices foliacées » ce qui correspond assez bien aux individus du MOTU 2. La description originale de *M. hirsuta* Pallary, 1904 ne correspond pas exactement à nos spécimens. L'examen du matériel type de Pallary pourrait nous permettre d'identifier ce groupe. Enfin le MOTU 4 récolté en mer Egée n'a pas de nom disponible. Ce clade est génétiquement divergent de tous les autres. Les individus qui y sont groupés possèdent une morphologie différente (presque sans épines, taille grande, proche de *M. gracilis*, dernier tour un peu globuleux, columelle avec des dents très peu développées). Ce clade pourrait correspondre à une espèce distincte endémique du Nord de la mer Egée. Afin d'être sûr que cette espèce est nouvelle et que les clades de Gabès sont endémiques, ce jeu de données a été inclus dans un jeu de données plus large comprenant des spécimens récoltés dans d'autres localités (analyses en cours). De fait une révision (phylogénétique et taxonomique) générale multigènes du genre *Muricopsis* en Méditerranée et Atlantique est en préparation (collaboration avec différents collègues).

6.2.3 Conclusion

Cette étude met en évidence 5 MOTUs génétiquement distinctes dont deux clades contiennent des spécimens récoltés en sympatrie dans le golfe de Gabès et excessivement semblables morphologiquement. Ces deux clades (C2 et C5) ne constituent pourtant pas des MOTUs proches, accréditant l'hypothèse d'une convergence évolutive de la morphologie de leurs coquilles. Les analyses phylogénétiques montrent que ces deux clades sont génétiquement éloignés et ne constituent pas par conséquent des espèces sœurs récemment séparées. De même en mer Egée deux clades (C1 et C4) sont séparés dont l'un est morphologiquement distinguable des autres (C1= *Murexsul cevikeri*) alors que le deuxième (C4= *M. cf. cristata*) n'est pas encore reconnu par les taxonomistes. Ces premiers résultats soulignent donc l'importance de placer ces 5 clades dans un contexte taxonomique robuste (par exemple examen des spécimens types de chaque espèce) pour pouvoir étudier la distribution géographiques des différentes espèces, rejeter ou confirmer l'endémisme dans le golfe de Gabès et éventuellement décrire des nouvelles espèces. Cette étude systématique demande aussi à être affinée par une étude plus détaillée des caractères morphologiques et écologiques.

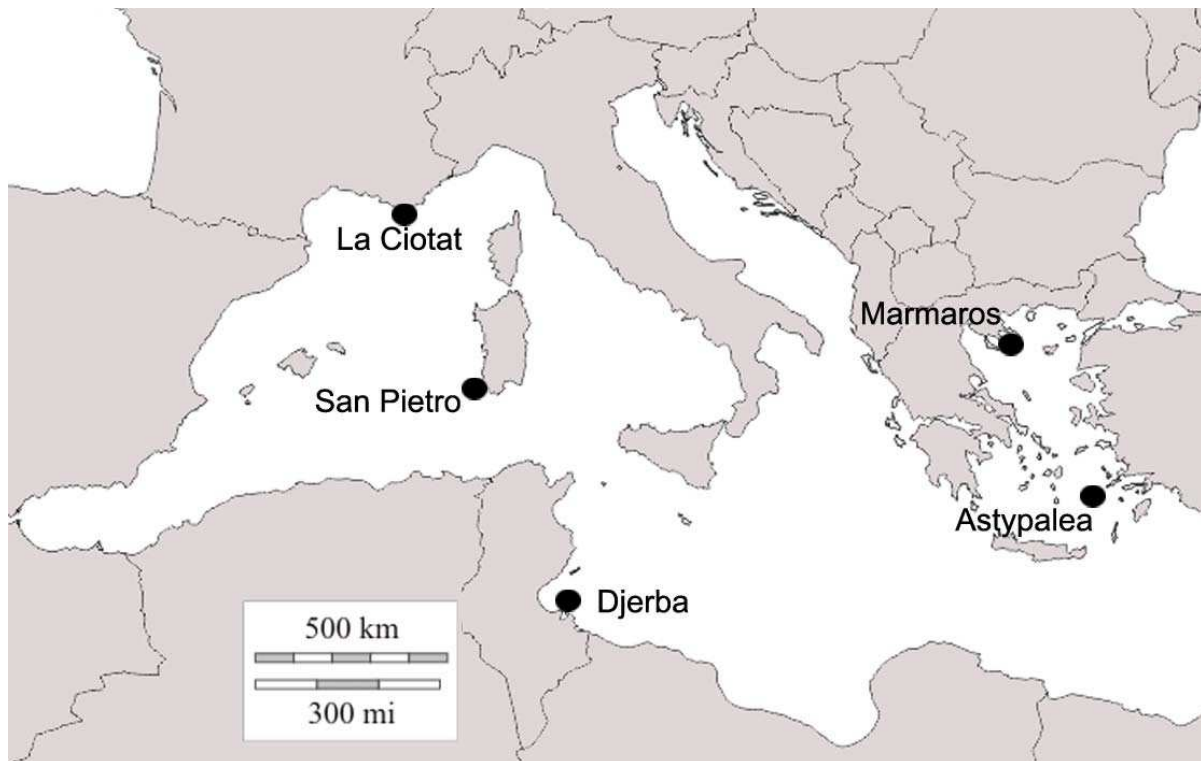


Figure 14. Localisation du matériel séquençé dans le genre *Muricopsis*.

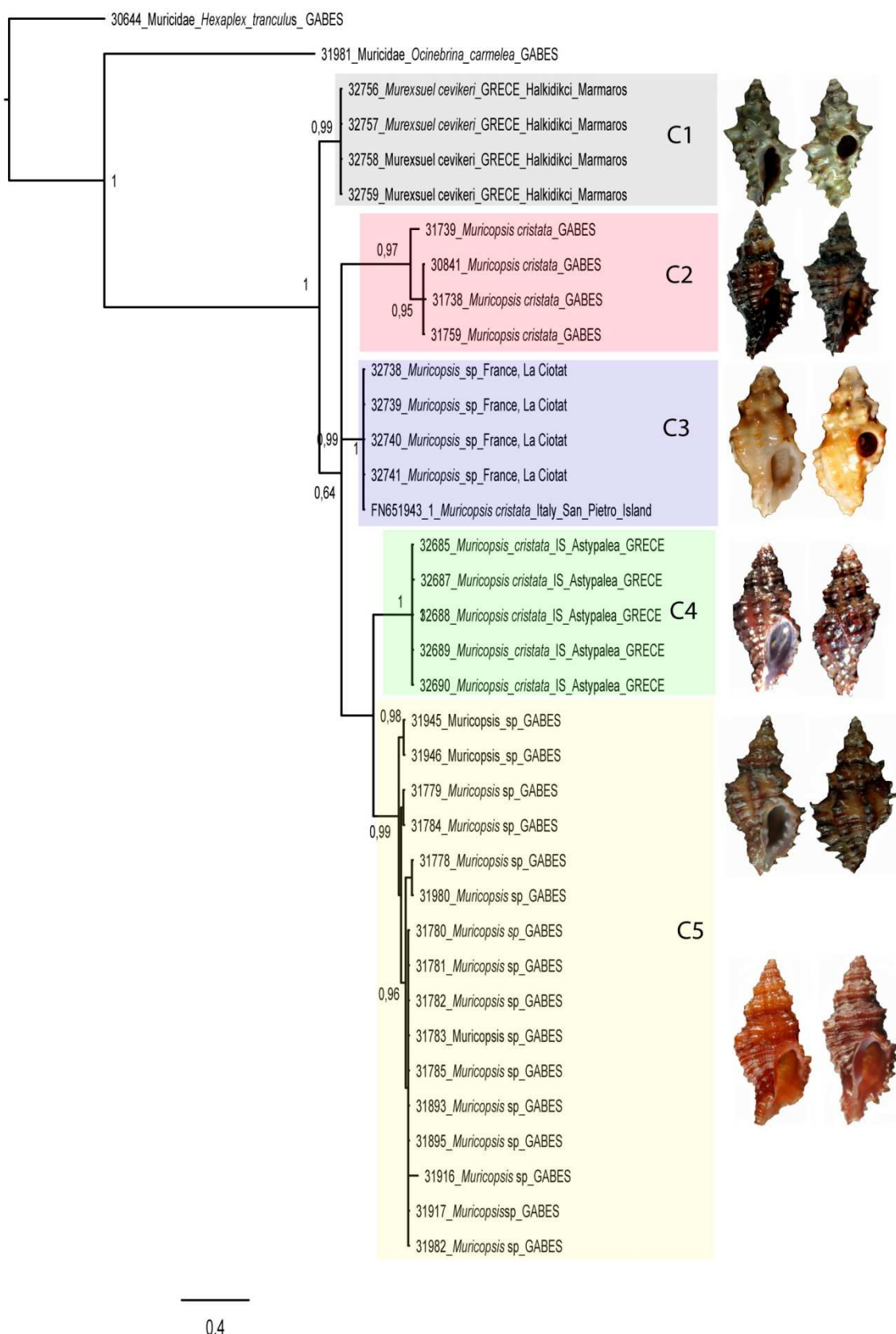


Figure 15. Phylogénie moléculaire du genre *Muricopsis* produite par des analyses d'inférence bayésienne du gène COI. Les PP < 50% ne sont pas représentées. Cinq lignées (C1- C5) sont délimitées et bien supportées par les analyses phylogénétiques.

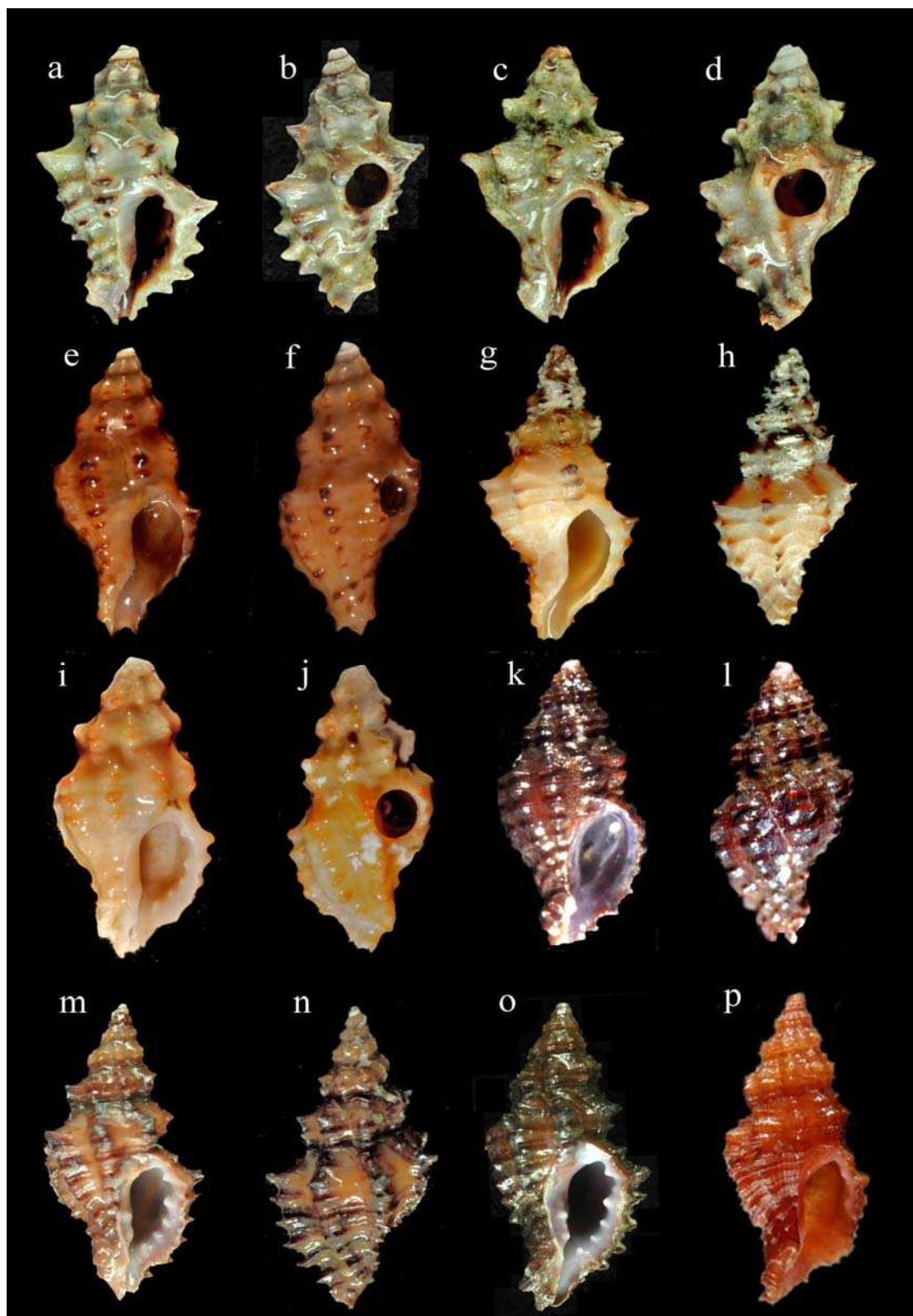


Figure 16. Variabilité morphologique et diversité cryptique au sein du genre *Muricopsis*. a-d: *Murexul cevikeri*, mer Egée, Halkidiki, Marmaros, (a-b) IM-2013-32757, (c-d) IM-2013-32758; e-j: *Muricopsis* cf. *cristata*, La Ciotat, Calanque de Figuerolles, (e-f) IM-2013-32741, (g-h) IM-2013-32739, (i-j) IM-2013-32740; k-l: *Muricopsis* cf. *cristata*, mer Egée, Astypalea, IM-2013-32685; m-o: *Muricopsis* sp, Djerba Sidi Jmour, (m-n) IM-2013-31946, (o) IM-2013-31945; p : *Muricopsis* sp Djerba, Borj Djellij; IM-2009-31784.

CHAPITRE VII

DISCUSSION GENERALE : BILAN DE L'ENDEMISME ET RETOUR A LA BIOLOGIE DE CONSERVATION

*« Etudie, non pour savoir plus, mais pour
savoir mieux ». De Sénèque*

7.1 Bilan de l'endémisme et considérations biogéographiques

L'approche moléculaire avec application de différents critères (ex: monophylie) comme aide à l' α -taxonomie classique des gastéropodes a permis rapidement de proposer des hypothèses de délimitation d'espèces que nous avons ensuite confronté aux données morphologiques, écologiques et géographiques. Cette étude intégrative a donc confirmé ou rejeté la validité de plusieurs taxons, distingué des espèces morphologiquement proches et mis en évidence l'existence d'espèces cryptiques dans la Méditerranée. Dans la majorité des cas nous avons réussi à obtenir au moins un marqueur moléculaire indépendant (28s) (articles 1 et 4) pour étayer les conclusions obtenues à partir des analyses génétiques mitochondriales. Cependant, dans d'autres cas (articles 2 et 3), nous n'avons pas pu les obtenir, nous avons donc pris en compte d'autres critères, morphologiques ou géographiques soutenus par la méthode de délimitation d'espèce ABGD.

A partir de la méthode de délimitation d'espèce ABGD, il a été possible d'établir rapidement des hypothèses de délimitation spécifique au sein des différents genres étudiés. L'analyse de la morphologie des coquilles a permis de consolider les hypothèses moléculaires. Sur les différents complexes d'espèces choisis, la méthode ABGD est apparue efficace. Les résultats moléculaires obtenus permettent de palier des problèmes systématiques classiquement connus dans la malacofaune du golfe de Gabès et dans la Méditerranée au sens large, et jusqu'à présent irrésolus.

L'endémisme et variations phénotypiques

Notre étude révèle aussi une situation contrastée. L'endémisme a été confirmé dans plusieurs cas mais il est rejeté dans certains autres. Ainsi chez les Muricidae nos approches moléculaires confirment l'endémicité et la validité des 2 espèces d'*Ocinebrina* (*O. hispidula*, *O. corallinoides*), cependant, *O. piantoni* et *O. carmelea* ne sont que deux variétés écophénotypiques locales d'*O. hybrida*. Cette espèce était considérée comme un taxon endémique de Sicile. Notre étude montre donc qu'elle est aussi présente en Tunisie. De même pour le genre *Muricopsis*, il est mis en évidence 5 lignées génétiquement distantes. Deux espèces sont sympatriques dans le golfe de Gabès dont l'une est probablement endémique. Chez les Trochidae (Chapitre III) l'endémisme est confirmé pour *Jujubinus fraterculus* mais il est rejeté pour *Jujubinus unidentatus*, simple variant de *Jujubinus exasperatus* connu dans toute la Méditerranée. Notre approche moléculaire montre aussi une forte diversité génétique avec deux complexes d'espèces définies «*Jujubinus striatus* complexe» et «*Jujubinus exasperatus* complexe» en Méditerranée. Dans le genre *Gibbula* nos résultats confirment

l'endémisme et la validité *Gibbula cincta* de Gabès, espèce distincte de ses homologues méditerranéens (*Gibbula turbinoides*, *Gibbula adansonii*). On note également une diversité cryptique au sein de l'espèce *G. adansonii* (résultats en cours).

Chez les Fissurellidae (Article 1), le séquençage de deux populations préalablement identifiées comme *Diodora demartiniorum* montre la présence de deux espèces distinctes. Le nom *D. demartiniorum* s'applique en fait aux seules populations du golfe de Gabès qui constituent une espèce endémique. La seconde de la mer Egée est reconnue comme nouvelle et décrite sous le nom *Diodora giannispadae* (Article 1, Aissaoui *et al.* 2016). Chez les Nassariidae, le golfe de Gabès est riche en variétés écophénotypiques mais renferme aussi 8 espèces dont quatre sont endémiques (avec 2 nouvelles espèces) : *T. lanceolata* (Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882), *T. tenuicosta* (Bucquoy, Dautzenberg & Dollfus, 1882), *T. pallaryana* n. sp. and *T. djerbaensis* n. sp. (Article 4).

Chez les Buccinidae du genre *Aplus*, (Article 2), *Aplus gaillarditii* et *Aplus nodulosus* traditionnellement synonymisés avec *Aplus dorbignyi* sont deux espèces distinctes. On reconnaît également un *Aplus* sp. proche mais distinct de *Aplus scaber*. Aucun *Aplus* n'est endémique du golfe de Gabès.

Si on retourne aux hypothèses de départ, on peut dire que les deux situations (endémisme ou variation) apparaissent en fonction des complexes d'espèces étudiés. L'endémisme est confirmé dans certains cas mais l'hypothèse qu'une partie des espèces décrites du golfe de Gabès ne sont que des variétés écophénotypiques est également attestée.

Enfin, on souligne que les espèces endémiques reconnues ont des protoconques de type paucispiral indiquant un développement non-planctotrophe avec donc une capacité de dispersion faible (voir Chapitre IV).

Origine des espèces endémiques du golfe de Gabès

Si quelques études (Calvo *et al.* 2009, 2015) font remonter certains endémiques méditerranéens à des événements néogènes, la plupart des auteurs inscrivent leurs réflexions dans le cadre des bouleversements du Quaternaire. Rappelons que celui-ci est caractérisé par l'alternance de climats glaciaires et interglaciaires avec des cycles de 40.000 ans entre 2,7 Ma et 1 Ma puis 100 000 ans après (Mélières & Maréchal 2010). On admet une quarantaine d'oscillations impliquant des glaciations entre 2,7 et 1 Ma ; et une dizaine sur le dernier million d'années dont les glaciations alpines « historiques » : Würm, Riss, Mendell, Günz et Donau. Ces glaciations sont responsables de baisses parfois considérables du niveau marin (de

-100 à -130 m environ). Ainsi après le dernier glaciaire (entre 19 000 et 20 000 BP) intervient une chute rapide du niveau marin estimée à $125 \text{ m} \pm 5 \text{ m}$ (Civile *et al.* 2015).

Autres données que nous enseignent notamment les carottes de glace étudiées aux pôles : la durée des cycles froids et chauds. En moyenne les interglaciaires qui correspondent donc au haut niveau marin sont relativement court, 10 000 ans, exceptionnellement 30 000 ans. Ainsi l'avant-dernier interglaciaire, l'Eemien (« Tyrrhénien » des anciens auteurs) qui a vu s'installer des éléments d'Afrique de l'Ouest sur les côtes tunisiennes a pris place entre -128 ka BP et -118 ka BP. On sait aussi que ces changements climatiques sont parfois brutaux et qu'à l'intérieur des cycles on connaît des oscillations très rapides. On note enfin que la première grande étape de la dernière déglaciation s'est manifestée par un réchauffement très brutal il y a 14.700 ans entraînant une rapide montée des eaux atteignant 4 mètres par siècle et cela durant 5 siècles (Mélières & Maréchal 2010). Le niveau marin s'est stabilisé il y a environ 6000 ans.

Tous ces événements ont évidemment affecté profondément les faunes marines littorales qui depuis 2,7 Ma sont entraînées dans des cycles de rétraction et d'expansion d'aire de distribution. C'est dans ce contexte que l'endémicité du golfe de Gabès doit être pensée avec des populations maintenues aux marges du golfe actuel (limite des 100 m ou des 20 m par exemple selon l'ampleur des variations eustatiques), lors des phases froides, mais qui régulièrement atteignent la côte littorale actuelle (ou la dépasse, par exemple durant l'avant-dernier interglaciaire avec un niveau marin de +5- 7 m lors des phases chaudes).

On peut tirer de ces données que d'une part la morphologie actuelle du golfe de Gabès est très récente (moins de 10 000 ans) et que d'autre part une partie du golfe a été généralement asséchée au cours du Quaternaire comme le montrent les courbes isobathes (voir Fig. 17). En fait, les périodes de haut niveau marin (l'Holocène par exemple) ne représentent en cumulées que 10% de la durée du Quaternaire (Mélières & Maréchal 2010). Durant le Quaternaire le niveau marin était donc généralement plus bas qu'aujourd'hui. Toutefois si l'on prend comme limite de côtes l'isobathe des -20 m on constate que la surface du plateau continental est encore très grande dans le golfe de Gabès, il en est de même pour l'isobathe des -50 m. Pour les baisses spectaculaires - 100 m (les moins nombreuses), le golfe est considérablement réduit mais un plateau encore conséquent existe encore entre -100 et -200m. On peut donc en conclure que durant tout le Quaternaire les faunes littorales de la région ont eu accès à un large plateau continental, le plus important de Méditerranée avec celui du Nord de l'Adriatique.

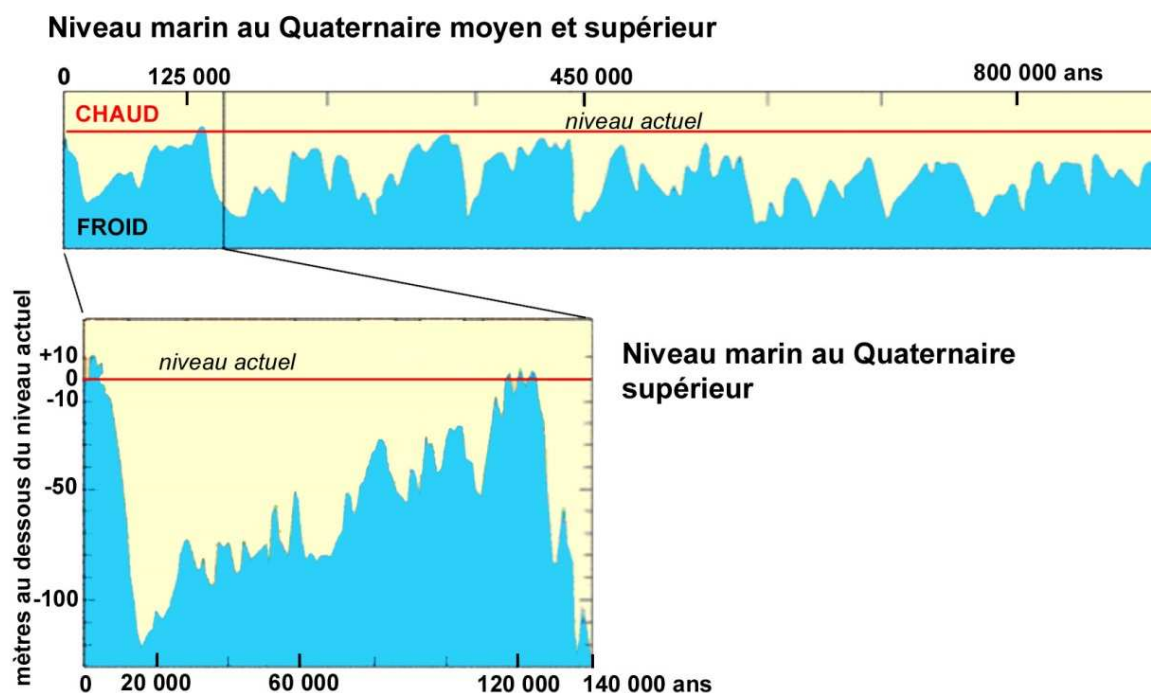


Figure 17. Courbe du niveau marin durant le Quaternaire montrant que le niveau actuel est exceptionnel à l'échelle de cette période. D'après Eric Grossman (consulté juin 2016) www.soest.hawaii.edu/ericg/eg_res.html (modifié).

La présence possible à Tripoli (Libye) de certaines espèces reconnues ici comme endémiques de Gabès (*ex: Diodora demartiniorum*) (Giannuzzi-Savelli *et al.* 1994) semble indiquer que l'aire de distribution de certains endémiques engloberait en fait le golfe de Syrte. L'idée que la Grande Syrte était une zone refuge potentielle pour les espèces de Gabès a plusieurs fois été avancée (Marco Oliverio, Serge Gofas comm. pers.) et notamment par nous (Aissaoui *et al.* 2016). La Grande Syrte a un plateau continental étroit qui n'offre pas d'avantage comparé à celui du golfe de Gabès en terme d'espace habitable. Il convient de souligner aussi que les côtes de Libye ont été très peu explorées et sa malacofaune n'est pas documentée. Au début de cette thèse, l'exploitation de ces côtes était l'un de nos objectifs, malheureusement l'environnement politique n'a pas permis de mener à bien ce projet. En l'absence de données biologiques moléculaires sur les populations du golfe de Syrte, considérer cette région comme une zone refuge pour les endémiques de Gabès lors des phases d'assèchement est pour l'instant très spéculatif. D'autant que la configuration du golfe de Gabès permet plus aisément le maintien de faunes littorales même le long du ruban des -100 m (baisse de niveau extrême).

Le golfe de Gabès actuel a un caractère exceptionnel à l'échelle du Quaternaire et l'on doit donc raisonner avec des côtes généralement situées au moins au-delà de la courbe des -20 m. A ce niveau eustatique et même plus bas il reste une zone privilégiée de Méditerranée.

En conséquence, plutôt que d'évoquer des recolonisations successives après chaque épisode glaciaire à partir de différents « refuges » (Sabelli 1980 ; Sabelli & Taviani 2014) – qui par ailleurs restent à définir – nous suggérons une évolution sur place de différentes espèces durant le Quaternaire. Le golfe de Gabès serait bien un centre de spéciation pour la Méditerranée. Le détroit Siculo-Tunisien a été, durant la majeure partie du Quaternaire, étranglé et régulièrement fermé (Civile *et al.* 2015). Cette configuration a certainement favorisé la divergence des populations de Méditerranée orientale. L'hypothèse la plus vraisemblable au vu des données que nous avons réunies est donc que le golfe de Gabès (s.l.) est une zone de spéciation.

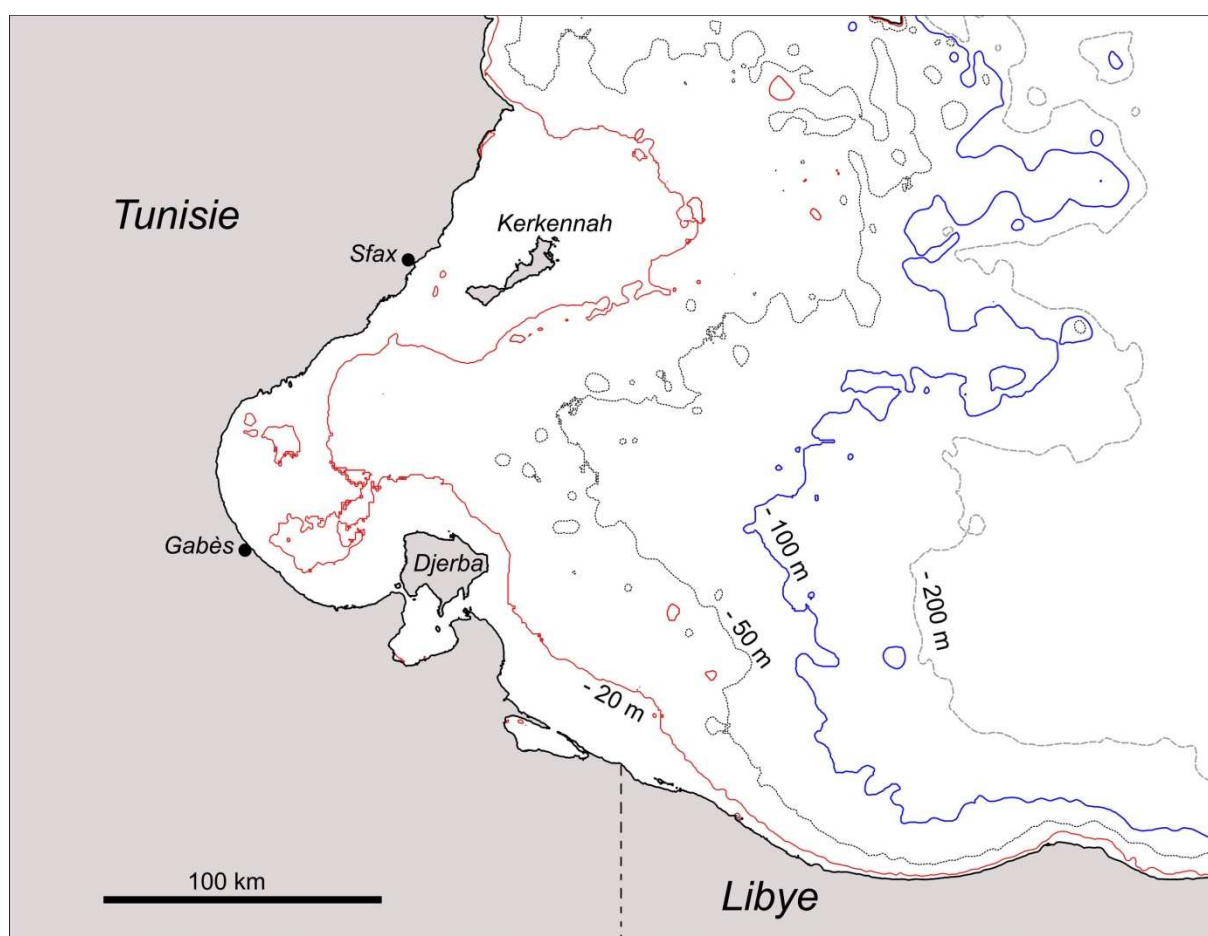


Figure 18. Carte bathymétrique du golfe de Gabès. Extrapolés aux bas niveaux eustatiques du Quaternaire, les isobathes représentés (-20, -50, -100, -200 m) montrent l'importance du plateau continental quel que soit l'ampleur de la régression marine.

Diversité cryptique dans d'autres secteurs de Méditerranée

L'un des résultats de nos études sur les mollusques du golfe de Gabès est la découverte de diversités cryptiques dans d'autres secteurs de la Méditerranée (Nord Adriatique, mer Egée, détroit de Gibraltar) chez différents groupes (cas de *Aplus dorbignyi*, article 3, *Tritia cuvierii*, article 4, cas d'*O. edwardsii* et *O. aciculata* dans le Chapitre V et article 5). Les études de Sa-Pinto *et al.* 2008 (sur le genre *Patella*), de Donald *et al.* 2012 (sur *Phorcus*), de Calvo *et al.* 2009, Calvo *et al.* 2015 (sur *Dendropoma*) montrent également la présence de lignées génétiques divergentes dans les deux bassins méditerranéens. La complexité géographique de la Méditerranée renforce l'isolement potentiel des populations. Par exemple, des péninsules isolent partiellement les mers Adriatique et Egée du reste de la Méditerranée, le seuil du détroit de Sicile divise la mer Méditerranée en deux bassins (occidental et oriental) et le détroit de Gibraltar isole la mer Méditerranée de l'Atlantique. Ce que semblent montrer par exemple les divergences génétiques entre les populations de *Aplus* (article 3) de Sicile, mer d'Alboran, mer Egée et de celle du golfe de Gabès.

Il faut donc envisager pour la Méditerranée divers refuges ou zones de spéciation dans lesquels les populations subissent une dérive génétique (Fig. 19). Dans ce schéma on doit aussi intégrer le fait que les optimum climatiques, comme notre interglaciaire actuel, l'Holocène, ont des durées courtes. Cela fait donc plus de 2 millions d'années que les faunes de Méditerranée vivent avec des contraintes de froid (par exemple le Nord de l'Adriatique) et de bas niveau marin durant de longues périodes.

Par ailleurs les divergences génétiques observées sont aussi reliées à des événements anciens comme la crise messinienne (entre 5-6 millions d'années) ainsi que l'attesterait l'étude sur le Vermetidae *Dendropoma* (Calvo *et al.* 2015; Taviani 2002). C'est donc des processus biogéographiques complexes qui ont conduit aux schémas de distributions actuelles de ces taxons marins et qui sont loin d'être élucidés. Une étude comparative moléculaire multi-gènes d'échantillons méditerranéens venant des différentes zones d'endémicités reconnues pourrait être riche d'enseignement sur le statut taxonomique et l'origine de certaines espèces. Enfin, la confrontation avec des données fossiles robustes serait aussi nécessaire. Cela implique en amont un travail de réactualisation des faunes fossiles classiques. Ainsi, les riches faunes de mollusques du Quaternaire de Tunisie (voir encadré 2 Chapitre I) correspondant à l'avant-dernier inter-glaciaire MIS 5 (Eémien, vers - 120 000 ans) n'ont jamais été étudiées de manière approfondie ce qui serait très intéressant dans la perspective de la datation de l'endémicité que relève notre étude.

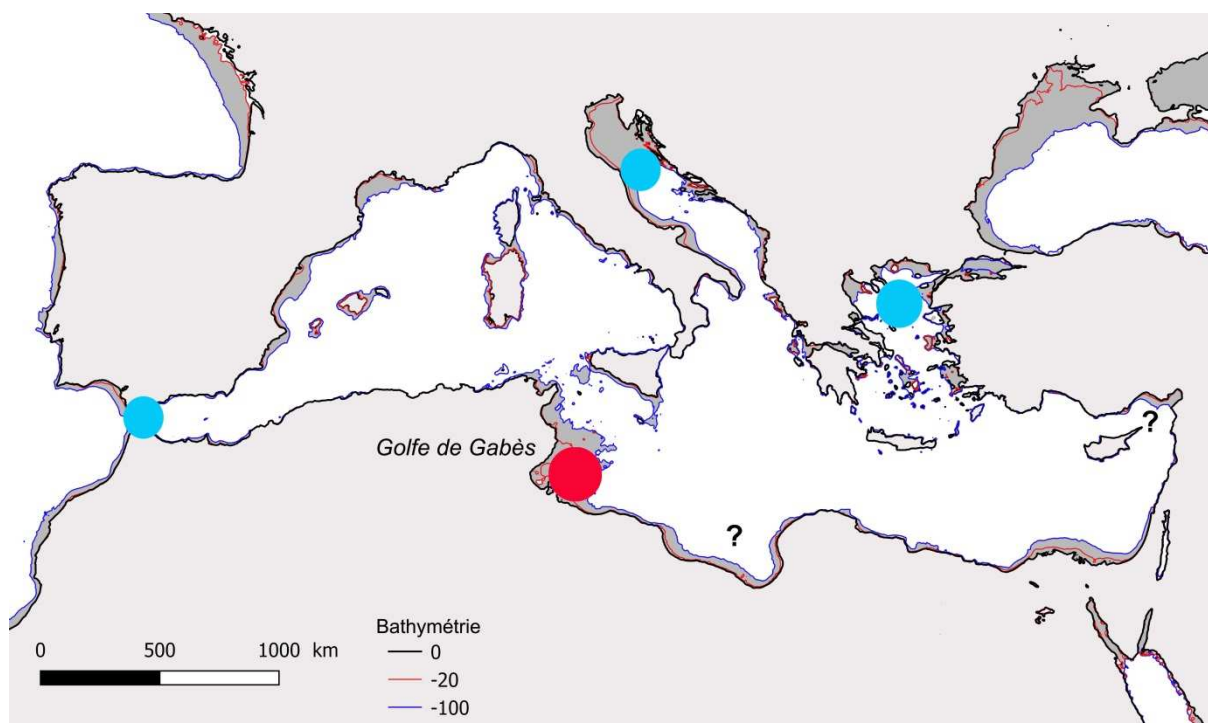


Figure 19. Sur cette carte est figuré en gris foncé le plateau continental à la limite des – 100 m. Le golfe de Gabès possède avec le nord de l'Adriatique le plateau le plus étendu de la Méditerranée. Les cercles bleus indiquent les principales aires à espèces endémiques (Gofas 1998, détroit de Gibraltar; Sabelli & Taviani 2014, Nord Adriatique, mer Egée) ; une endémicité importante est maintenant documentée dans le golfe de Gabès (cercle rouge) et la présence de plusieurs endémiques est confirmée en mer Egée.

7.2 Réflexion sur la conservation de la biodiversité marine dans le golfe de Gabès et en Méditerranée

L'érosion de la biodiversité marine de plus en plus médiatisée est l'une des préoccupations mondiales. Cette érosion est due en grande partie à l'anthropisation croissante de la planète. Les conséquences du changement global se font ressentir plus fortement depuis plusieurs années (migrations d'espèces, extinctions d'espèces, perturbations écosystémiques). Le golfe de Gabès, riche système semi-fermé de profondeur faible est particulièrement vulnérable aux développements de l'urbanisation et des phénomènes climatiques globaux. Situation dramatique car il abrite une biodiversité très originale (comme le montrent nos premiers résultats sur l'endémisme) dont la perte serait irremplaçable.

Ces changements globaux ont ainsi amené la plupart des pays méditerranéens à élaborer leurs Stratégies Nationales d'Adaptation, intégrées aux programmes régionaux méditerranéens. Dans le but de préserver l'habitat ainsi que l'espèce, les efforts de conservation se sont orientés vers la création d'Aires Marine Protégées (AMP) et la classification de certains sites comme sensibles. En outre la création des réseaux d'AMP

permet une coordination plus efficace entre les pays en appliquant une politique de gestion commune pour une meilleure protection des espèces migratrices. Plusieurs conventions internationales ont été élaborées (PNUE, Ramsar) et la Tunisie y adhère depuis plusieurs années. La Tunisie compte deux Aires Marines Protégées déjà établies, 19 zones sensibles et 4 AMP en cours d'instauration (Gomei & Di Carlo 2012). Le golfe de Gabès est l'objet d'une attention particulière, que ce soit dans le cadre des conventions internationales visant à protéger le milieu marin (Ramsar, PNUE) ou à l'échelle nationale (création : d'Aires Marines protégées, AMP ; de zones sensibles ; renforcement de la réglementation des pêches). Il abrite actuellement plusieurs réserves naturelles et aires protégées ainsi qu'une Aire Spécialement Protégée d'Importance Méditerranéenne (ASPIM) qui couvre les îles Kneiss et l'Archipel de Kerkennah. Sept autres sites font également partie des zones humides d'importance internationale (Convention de Ramsar). Cependant, ces programmes axés sur les conditions générales de l'environnement (sol/eaux) ne sont pas accompagnés de mesures conservatoires sur les organismes et apparaissent très insuffisants pour sauvegarder la biodiversité et l'originalité du golfe de Gabès. L'instauration d'une législation adéquate, une gestion durable des espèces exploitées, sont des mesures essentielles qu'il faut encourager dans la région parallèlement à la participation aux instances internationales.

En Tunisie, le flux d'espèces exotiques connaît une expansion rapide et 16% de cette faune exotique a été observée pour la première fois dans les lagunes. L'impact des invasives sur les espèces natives, les écosystèmes et finalement les activités économiques se font de plus en plus sentir (Ben Souissi 2015, Ben Souissi *et al.* 2016).

Le golfe de Gabès est une zone victime de la bio-invasion qui semble croître assez rapidement. En effet plusieurs composantes du changement global y agissent en synergie: changement climatique, invasions exotiques, pollution, anthropisation importantes des côtes. Ces facteurs menacent la pérennité des espèces marines natives et l'équilibre des populations. Les agressions anthropiques majeures, déversement en mer de phosphogypse suite à l'implantation de grands complexes d'industries chimiques (Guillaumont *et al.* 1995 ; Bejaoui *et al.* 2004), pressions liées à l'expansion de l'urbanisation (tourismes, infrastructures), intensification de la pêche (la pêche des éponges, pêche des crevettes, aux chaluts) bouleversent l'écosystème du golfe de Gabès. La distribution des espèces est aussi très affectée par le réchauffement climatique et on assiste de plus en plus à l'introduction d'espèces exotiques thermophiles provenant essentiellement du canal de Suez (au détriment des espèces endémiques à affinités d'eaux plus froides) (Annexe 4, Fig. 20)

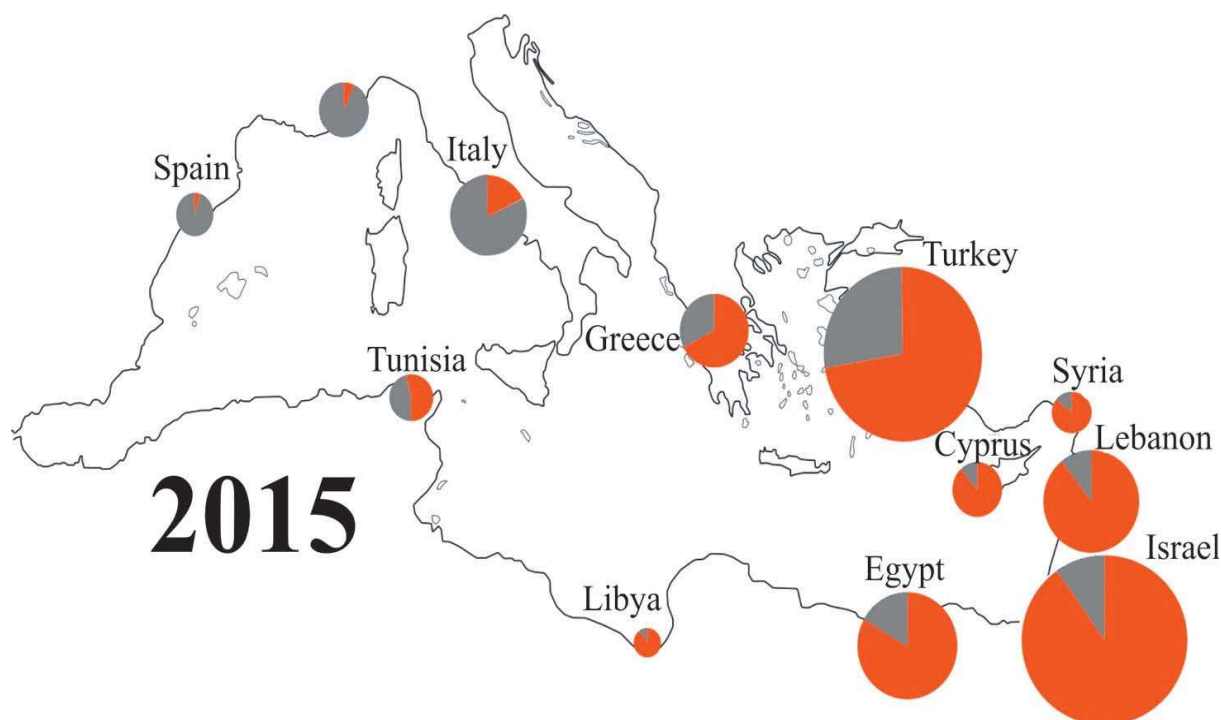


Figure 20. Proportions d'Espèces Non Indigènes observées dans quelques pays méditerranéens en rouge les espèces introduites via le canal de Suez (source Galil *et al.* 2015).

Cependant, la bioinvasion n'est pas toujours perçue par les populations qui parfois s'en accommodent. A titre d'exemple, *Pinctada radiata*, l'une des premières espèces non indigènes mentionnées dans les eaux tunisiennes depuis 1895, connaît aujourd'hui une large expansion en Tunisie. Ce Pteriidae constitue, dans le golfe de Gabès, l'un des principaux épibiontes ; massivement fixé sur les rhizomes de *Posidonia oceanica*, il entrave le développement de cette espèce très emblématique de Méditerranée. La quantité de coquilles vides et des spécimens vivants rejetés par la mer sur l'île de Djerba est énorme à tel point qu'il constitue des monticules nommés par les insulaires «cimetière d'huîtres» (Ben Souissi 2015).

A différentes échelles des écosystèmes depuis les perturbations physiologiques des espèces jusqu'aux modifications au sein des communautés et de leurs structures on observe d'importants changements, modifications. Ainsi lors de la prospection des différents sites du golfe de Gabès en 2012-2013, il a été ainsi constaté l'absence d'espèces rares et ou considérées comme endémiques récoltées il y a 30 ans (par une équipe internationale et des membres de l'équipe d'échantillonnage des récoltes faites en 1982, conservées au Muséum de Paris). Le golfe de Gabès montre par ailleurs une régression documentée de l'herbier à Posidonies (Encadré 4, Fig.21) qui témoigne d'une dégradation spectaculaire de l'environnement. En relation avec ce phénomène, on constate également la présence (qualitativement importante) d'espèces indicatrices de milieux instables, la présence

d'espèces sciaphiles à des profondeurs très faibles, la régression de la limite inférieure de l'étage infralittoral et par conséquent une remontée de la limite supérieure des milieux envasés et dégradés du circalittoral (Lahbib *et al.* 2011).

Pour mieux appréhender les espèces invasives, dont l'importance croissante est préoccupante, une base de données complète, régulièrement actualisée s'impose à l'échelle de toute la Méditerranée. Elle devrait regrouper d'une part, des données historiques (développement de nouvelles populations, impact ressenti ...) et d'autre part, des données biologiques afin d'identifier et de suivre la dispersion de ces espèces exotiques.

La Méditerranée est considérée comme un "hot spot" de biodiversité (Sabelli & Taviani 2014), la préservation de ses espèces natives et de ses habitats sensibles est un enjeu primordial. Un système de réseautage et d'alerte précoce doit être nécessairement mis en place pour se préparer par exemple aux processus de tropicalisation et de méridionalisation de la rive nord et du bassin occidental de la Méditerranée. Dans ce contexte, les recherches sur la rive sud de la Méditerranée apparaissent prioritaires car cette région directement sous-l'influence du courant invasif principal (le canal de Suez) est globalement sous-étudiée.

Encadré 4. Les prairies à Posidonies dans le golfe de Gabès de 1925 à 2011

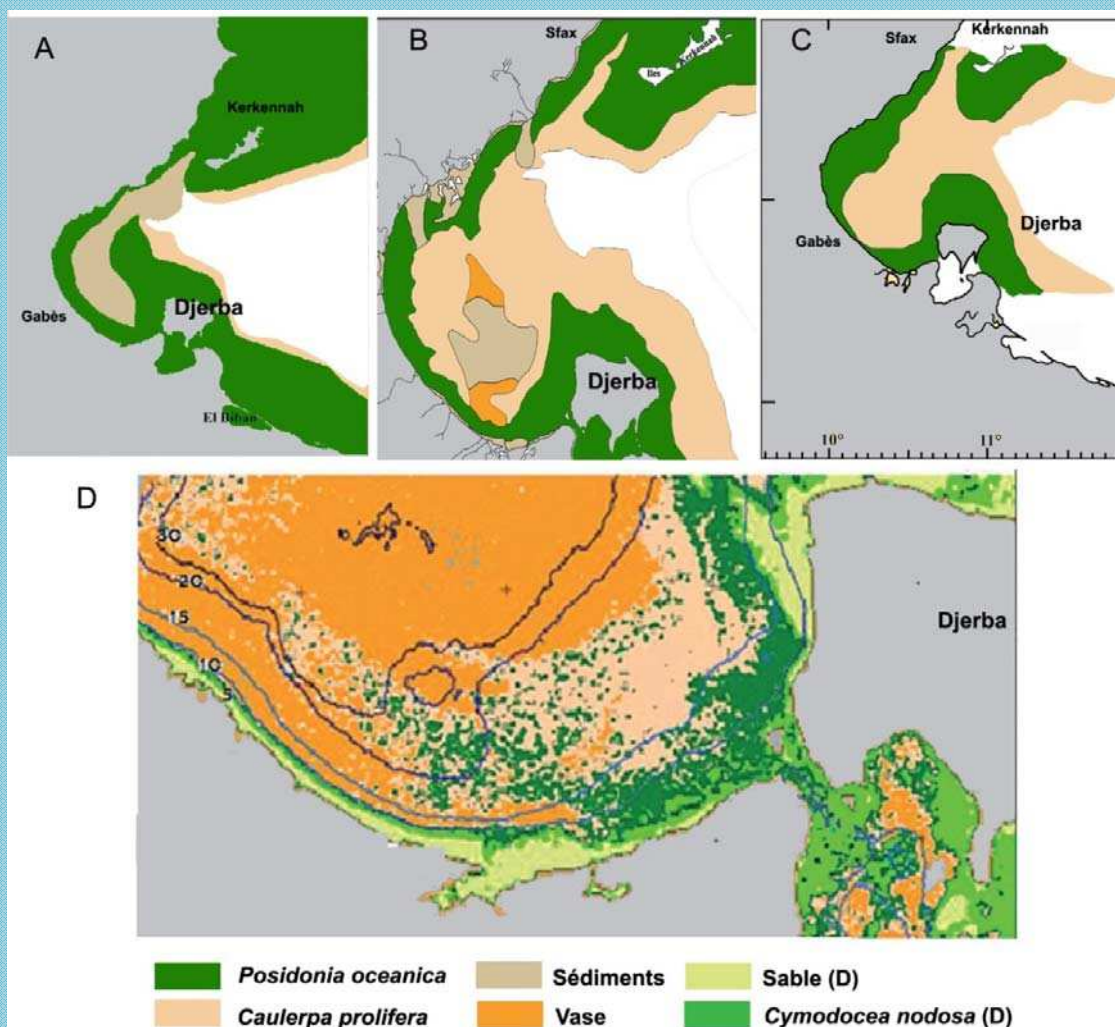


Figure 21. Evolution du couvert végétal du golfe de Gabès entre 1925 et 2011: A: (Le Danois 1925); B: (De Gaillande 1970b modifié); C: (Darmoul 1988 modifié), D: (Lahbib *et al.* 2011).

La prairie à Posidonies est un écosystème infralittoral qui constitue un bioindicateur de premier ordre sur la santé du domaine marin côtier. Or, cet écosystème, et en particulier dans le Sud tunisien (golfe de Gabès), est menacé (Ardizzone & Pelusi 1984; Hattour & Ben Mustapha 2013). Comme agents destructeurs on notera: (i) la diminution de la transparence de l'eau, (ii) l'arrachement des rhizomes à cause du chalutage benthique, (iii) l'activité de pêche aux éponges en utilisant la gangave (engin destructeur des fonds marins) et (iv) l'eutrophisation et l'apparition des eaux rouges due à l'installation du complexe chimique de phosphogypse et d'un terminal pétrolier. D'après les données réunies ces 30 dernières années, il ne resterait dans le Golfe de Gabès que 5% des prairies autrefois observées par Le Danois en 1925 (Hattour & Ben Mustapha 2013). Les travaux de Molinier & Picard (1954), De Gaillande 1970a, Poizat 1970, De Gaillande, (1970b) et Ktari-Chakroun & Azouz (1971) ont aussi souligné la forte régression de *Posidonia oceanica* maintenant remplacés par *Caulerpa prolifera*. Darmoul *et al.* (1978), Darmoul (1988) et Maggi (1973) réaffirment cette forte dégradation qui est accentuée par la pollution, et surtout par les rejets de phosphogypse. Dans une étude plus récente, Lahbib *et al.* (2011) indiquent que le golfe de Gabès subit, parallèlement, un envasement de plus en plus important de ses fonds avec notamment l'accumulation de débris de *Posidonia oceanica* et de *Caulerpa prolifera* qui représentent respectivement 5,9 % et 12,2 % du dépôt. Par ailleurs, certains auteurs signalent que la fragilisation de *P. oceanica* en Méditerranée, favorise la conquête de nouveaux espaces par *C. prolifera* (Molinier et Picard, 1954 ; De Gaillande 1970b ; Darmoul *et al.* 1980 ; Villèle & Verlaque 1995). A cause de cette détérioration générale provoquant la perte de superficies importantes d'herbiers à Posidonies, la richesse faunistique de ses fonds semble changer qualitativement et quantitativement.

Le manque de connaissance dans la Méditerranée Centrale, le long des côtes libyennes en particulier (Grande Syrte notamment) constitue un sérieux handicap pour la compréhension de l'évolution des écosystèmes littoraux (propagation/implantation des espèces invasives, évaluation de l'endémicité). A une échelle plus locale, le golfe de Gabès avec ses particularités, son endémisme avéré (notamment par cette étude), l'impact déjà reconnu des espèces invasives, se révèle une zone de surveillance et d'études prioritaires. Cependant face à un développement très rapide des transports maritimes intercontinentaux, et suite à l'élaboration tardive d'une réglementation efficace de contrôle des vecteurs de la contamination que sont les eaux de ballasts, la lutte contre les espèces exotiques semble sans issue (Ben Souissi *et al.* 2016). D'autant que l'élargissement récent du Canal de Suez suscite de grandes inquiétudes (Galil *et al.* 2014) qui apparaissent fondées (Harmelin *et al.* 2016).

Cette étude a montré que plusieurs espèces communes (chez les Fissurellidae, Trochidae, Nassariidae) apparaissent endémiques au golfe de Gabès. Leur habitat très littoral permet d'effectuer aisément des prélèvements et de suivre l'état des populations. Elles pourraient donc constituer à terme un des groupes repères pour apprécier l'évolution de l'environnement côtier de Gabès.

Un intérêt particulier devrait aussi être accordé aux milieux portuaires et aux lagunes (récepteurs importants d'espèces invasives) afin de surveiller les invasions et de prévenir l'infestation des aires marines protégées souvent considérées comme des zones sensibles pouvant servir de "transit" et d'aires d'acclimatation pour les espèces exotiques.

La surveillance des lagunes et milieux portuaires sont aussi une priorité car ils sont reconnus comme étant des récepteurs importants d'espèces invasives en Méditerranée.

7.3. Perspectives

Plusieurs autres familles de gastéropodes ont été échantillonnées et en partie séquencées : Patellidae, Trochidae, Phasianellidae, Littorinidae, Cerithiidae (*Cerithium*), Naticidae, Colubrariidae, Fascioliidae, Columbidae (*Columbella*, *Mitrella*), Costellariidae, Conidae (*Conus*), Bullidae, Haminoeidae. Les premiers résultats montrent dans ces groupes l'existence probable d'espèces endémiques et à court terme certaines familles (Cerithiidae, Trochidae, *Conus*) pour lesquelles les études sont bien avancées devraient faire l'objet d'articles.

Cependant, il apparaît fondamental de compléter l'échantillonnage avec des spécimens d'autres secteurs de Méditerranée. En particulier l'exploration du golfe de la Grande Syrte (Libye) est un projet prioritaire et particulièrement stimulant. C'est en effet une étape indispensable pour cerner l'aire de distribution réelles des endémiques reconnus dans le golfe de Gabès et consolider ou réfuter les hypothèses sur leurs origines. Il conviendrait également de généraliser les comparaisons avec d'autres secteurs particuliers de Méditerranée comme la mer Adriatique (pôle « froid »), la mer Egée.... suspectés riches en espèces endémiques mais dont le statut n'a pas fait l'objet d'examen rigoureux. Il sera ensuite possible de cartographier plus précisément les zones d'endémicité de la Méditerranée et donc de mieux décrire l'originalité de cette mer au lointain passé.

Bibliographie

- Aartsen JJ van, Menkhorst HPM, Gittenberger E (1984) The marine Mollusca of the Bay of Algeciras, Spain, with general notes on *Mitrella*, Marginellidae and Turridae. *Basteria* Supplement, 2: 1-135.
- Afli A, Ben Mustapha K (2001) Les peuplements benthiques du golfe de Gabès. In Élaboration d'une étude de création d'aires marines protégées et de récifs artificiels. I – Golfe de Gabès. *Bulletin de l'Institut National des Sciences et Technologies de la Mer, Salammbô, Tunisie*: 91-133.
- Ávila SP, Borges JP, De Frias Martins AM (2011) The littoral Trochoidea (Mollusca: Gastropoda) of the Azores. *Journal of Conchology*, 40(4): 408-427.
- Ar dovini R (2006) *Jujubinus catenatus* sp. n. (Gastropoda, Trochidae) del Canale di Sicilia. *Malacologia - Mostra mondiale (Cupra Marittima)*, 52: 6-7.
- Avisé JCJ, Arnold RM, Ball E, Bermingham T, Lamb JE, Neigel CAR, Saunders NC (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 18:489-522.
- Arnaud-Haond S, Duarte CM, Diaz-Alnula E, Marbà N, Sintes T, Serrao A (2012) Implication of extreme life span in clonal organisms: Millenary clones in meadows of the threatened sea grass *Posidonia oceanica*. *Plos one*, 7(2): e 30454. doi: 10.1371/ journal.pone.0030454.
- Augier H (1986) L'herbier de *Posidonia oceanica*, son importance pour le littoral méditerranéen, sa valeur comme indicateur biologique de l'état de santé de la mer, son utilisation dans la surveillance du milieu. Les bilans écologiques et les études d'impact. *Vie marine*, 7: 85-113.
- Alcoverro T, Manzanera M, Romero J (1998) Seasonal and age-dependant variability of *Posidonia oceanica* (L) Delile photosynthetic parameters. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 230(1):1-13.
- Azouz A (1971) Etude des biocénoses benthiques et de la faune ichtyologique des fonds chalutables de la Tunisie, région nord et sud-est. Thèse Doctorat, Science naturelle Université de Caen, 971. AO 6471 : 243 pp.
- Amari A (1984) Contribution à la connaissance hydrologique et sédimentologique de la plateforme des îles Kerkennah. Thèse de 3ème cycle. Université de Tunis, pp. 251

- Barco A, Claremont M, Reid DG, Houart R, Bouchet P, Williams ST, Cruaud C, Couloux A, Oliverio M (2010) A molecular phylogenetic framework for the Muricidae, a diverse family of carnivorous gastropods. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56 (3): 1025-1039
- Barco A, Corso A, Oliverio M (2013a) Endemicity in the Gulf of Gabès: the small mussel drill *Ocenebrina hispidula* is a distinct species in the *Ocenebrina edwardsii* complex (Muricidae: Ocenebrinae). *Journal of Molluscan Studies*, 79: 273–276.
- Barco A, Houart R, Bonomolo G, Crocetta F, Oliverio M (2013b) Molecular data reveal cryptic lineages within the northeastern Atlantic and Mediterranean small mussel drills of the *Ocenebrina edwardsii* complex (Mollusca: Gastropoda: Muricidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 169 (2), 389-407.
- Barale V (1994) Mediterranean couleurs. *Commission internationale pour l'exploration scientifique de la Méditerranée (CIESM)*, 4pp
- Barash A, Danin Z (1992) Annotated list of Mediterranean molluscs of Israel and Sinai. *The Israel Academy of Sciences and Humanities*. Jerusalem, 405.
- Bariche M, Bernardi G (2009) Lack of a genetic bottleneck in a recent Lessepsian bioinvader, the blue-barred parrotfish, *Scarus ghobban*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53:592–595
- Bejaoui B, Rais S, Koutitonsky V (2004) Modélisation de la dispersion du phosphogypsedans le golfe de Gabès. *Bulletin de l'Institut National des Sciences et Technologies de la Mer de Salammbô*, 31: 103-109.
- Bella SG, Ferdinando B, Marnie LC, James TC, Elizabeth C, Simonetta F, Stephan G, Chad LH, Anders J, Enrique M, Agnese M, Cynthia M, Dan M, Anna OA, Henn O, Sergej O, Stefano P, Gregory MR (2014) 'Double trouble': the expansion of the Suez Canal and marine bioinvasions in the Mediterranean Sea. *Biological Invasions*, doi 10.1007/s10530-014-0778, 1-4.
- Bellan-Santini D, Lacaze, JC, Poizat C (1994) Les biocénoses marines et littorales de Méditerranée, Synthèse, Menaces et Perspectives. *Collection Patrimoines naturelles, Vol.19, Série Patrimoine Ecologique. Museum National d'Histoire Naturelle, Paris*, 246p
- Ben Mustapha K, Afli A (2002) Quelques traits de la biodiversité marine en Tunisie et proposition d'aires de conservation et de gestion. MedSudMED's expert consultation: Marine protected areas and Fisheries management. *Assessment and monitoring of the fisheries resources and ecosystems in the strait of Sicile; FAO-MiPAF. Salammbô, Tunisie.*: 29 pp.

- Ben Mustapha K, El Abed A (2002) Herbiers de posidonie, éponges et mégabenthos importants du golfe de Hammamet. In *Élaboration d'une étude de création d'aires marines protégées et de récifs artificiels. III - Golfe de Hammamet* (183 pp). *Bulletin de l'Institut National des Sciences et Technologies de la Mer de Salambô*, 91-128
- Ben Mustapha K, Hattour A, Mhetli M, El Abed A, Tritar B (1999) Bionomie des étages Infra et Circalittoral du golfe de Gabès. *Bulletin de l'Institut National des Sciences et Technologies de la Mer de Salambô-Tunisie*, 26 : 5-48.
- Ben Othman S (1971) Etude préliminaire sur l'ichtyologie du Sud tunisien. *Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Méditerranée*, 444 pp
- Ben Othman S (1973) Le Sud Tunisien (Golfe de Gabès) : Hydrologie, Sédimentologie, flore et faune. Thèse de 3ème cycle. Université de Tunis, 166 pp.
- Bichain JM, Gaubert P, Samadi S, and Boisselier-Dubayle MC (2007b) A gleam in the dark: Phylogenetic species delimitation in the confusing spring-snail genus *Bythinella* Moquin Tandon, 1856 (Gastropoda: Rissooidea: Amnicolidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 45:927-941.
- Bignami F, Mattioli G, Rotundi A, Salusti E (1990a) On a Sugimoto effect in the Mediterranean Sea: sinking and mixing of a bottom current in the Bari Canyon, southern Adriatic Sea. *Deep Sea Research*, 37(4): 657-665.
- Bignami F, Salusti E, Schiarini S (1990b) Observations on a Bottom Vein of Dense Water in the Southern Adriatic and Ionian Seas. *Journal of Geophysical Research*, 95 (5):7249-7259.
- Blanpied C, Burrolet PF, Clairefond P, Sechimi M (1979) Cadre géographique et géologique du plateau continental de la Tunisie. In *Géologie Méditerranéenne, la Mer Pélagienne. Annales de l'Université de Provence*, 6 (1) : pp. 19-22
- Bogi C, Campani E (2006) *Jujubinus curinii* n. sp: una nuova specie di Trochidae per le coste della Sicilia. *Bollettino Malacologico* 41 (9-12): 99-10.
- Baldovì JD (2007) Catalogo de los Gasterópodos testáceos marinos de la parte Sur del Golfo de Valencia (España). *Iberus* 25: 29-61.
- Bouchet P, Warén A (1980) Revision of the North-East Atlantic bathyal and abyssal Turridae (Mollusca: Gastropoda). *Journal of Molluscan Studies*, 8:1-119
- Bouchet P, Poppe G (1988) Deep water volutes from the New Caledonian region, with a discussion on biogeography. *Venus*, 47:15-32.

- Bouchet P. & Warén A. (1994) Ontogenetic migration and dispersal of deep-sea gastropod larvae, p. 98-117. In: C.M.Young & R.J. Eckelbarger (Eds). Reproduction, larval biology and recruitment of the deep-sea benthos. NewYork, Columbia University Press, 336p.
- Bouchet P, Rocroi, JP (2005) Classification and nomenclator of gastropod families. *Malacologia*, 47, 1–397.
- Boudouresque CF, (2004) Marine biodiversity in the Mediterranean: status of species populations and communities. *Scientific reports of Port-Cros national park*, 20: 97-146
- Bonhomme F, Planes S (2000) Some evolutionary arguments about what maintains the pelagic interval in reef fishes. *Environmental Biology of Fishes*, 59:365-383.
- Brookes JI, Rochette REM (2007) Mechanism of a plastic phenotypic response: predator-induced shell thickening in the intertidal gastropod *Littorina obtusata*. *Journal of Evolutionary Biology*, 20:1015.
- Brandhorst W (1977) Les conditions du milieu au large des côtes tunisiennes. *Bulletin de l'Institut National Scientifique et Technique d'Océanographie et de Pêche de Salammbô*, 4 (2-4) : pp. 129-220.
- Burollet PF (1979) Evolution depuis le Quaternaire E – Les apports de l'archéologie in La mer Pélagienne, Burollet, P F, Clairefond, P et Winnock, E (Ed). *Géologie Méditerranéenne* 6 (1): 309-313.
- Buzzurro G, Russo P (2005) Notes and comments on the Mediterranean species of the genus *Diodora* Gray, 1821 (Archaeogastropoda, Fissurellidae) with a description of a new species. *Triton*, 10: 1-9.
- Cachia C, Mifsud C, Sammut PM, 2004. The marine Mollusca of the Maltese Islands part four: The classes Caudofoveata, Solenogastres, Bivalvia, Scaphopoda & Cephalopoda. *Marine Malacology*, 270 p., 25 pls
- Calvo M, Templado J, Oliverio M, Machordom A (2009) Hidden Mediterranean biodiversity: molecular evidence for a cryptic species complex within the reef building vermetid gastropod *Dendropoma petraeum* (Mollusca: Caenogastropoda). *Biological Journal of the Linnean Society*, 96: 898-912.
- Casellato S, Stefanon A (2008) Coralligenous habitat in the northern Adriatic Sea: an overview. *Marine Ecology*, 29:321–341.
- Castany G (1955) Plissements Quaternaires Dans la Région de Gafsa et le Sud Tunisien, *Aufsätze Mediterranegebiet Geologische Rundschau* (43) 1: 196-203
- Castelin M (2010) Lien entre endémisme et développement larvaire en milieu marin: le cas des gastéropodes des monts sous-marins de la Zone Economique Exclusive de Nouvelle

- Calédonie, 275p. Thèse de doctorat, Systématique et Evolution. Muséum national d'Histoire naturelle, Paris.
- Cecalupo A, Buzzurro G, Mariani M (2008) Contributo alla conoscenza della malacofauna del Golfo di Gabès (Tunisia). *Quaderni della Civica Stazione Idrobiologica di Milano*, 31:1-175.
- Ceregato A, Raffi S, Scarponi D (2007) The circalittoral/bathyal paleocommunities in the Middle Pliocene of Northern Italy: The case of the *Korobkovia oblonga*–*Jupiteria concava* paleocommunity type. *Geobios*, 40:555-572.
- Civile D, Lodolo E, Zecchin M, Ben-Avraham Z (2015) The lost Adventure Archipelago (Sicilian Channel, Mediterranean Sea): Morpho-bathymetry and Late Quaternary palaeogeographic evolution. *Global and Planetary Change*, 125 (2015) 36–47.
- Claremont M, Houart R, Williams ST, Reid DG (2013) A molecular phylogenetic framework for the Ergalataxinae (Neogastropoda: Muricidae). *Journal of Molluscan Studies*, 79: 19-29.
- Coll M, Piroddi C, Steenbeek J, Kashner K, Lasram FBR, Aguzzi J, Ballesteros E, Bianchi CN, Corbera J, Dailinis T, Danovaro R, Estrada M, Frogia C, Galil BS, Gasol JM, Gerwagen R, Gil J, Guilhaumon F, Kesner-Rayes K, Kitsos MS, Koukouras A, Lampradariou N, Laxamana E, Lopez Fe de la Cuadra CM, Lotze HK, Martin D, Mouillot D, Oro D, Raichevich S, Rius-Barile J, Saiz-Salinas JJ, San Vicente C, Somot S, Templado J, Turon X, Vafidis D, Villanueva R, Voultsiadou E (2010) The Biodiversity of the Mediterranean Sea: Estimates, Patterns, and Threats. *PLoS One* 5:1-36
- Cook, L. M. 2008. Variation with habitat in *Cepaea nemoralis*: the Cain & Sheppard diagram. *Journal of Molluscan Studies*, 74: 239-243.
- Cossignani T, Ardevini R (2011) Malacologia Mediterranea. Atlante delle conchiglie del Mediterraneo – 7.500 foto a colori. Ancona: L'Informatore Piceno.
- Cossmann M (1903). Essais de paléoconchologie comparée, vol. 5. Published by the author and de Rudeval, Paris, 215 p, 9 pls
- Cracraft J (1983) Species concepts Analysis. *Ornithology*. (1):159-168
- Cretella, M (1992–1993). Rassegna delle specie viventi del genere *Jujubinus* Monterosato, 1884 (Gastropoda: Trochidae), (Parts I–IV). *La Conchiglia*, 264 (1992): 14-23, 265 (1992): 16-20, 266 (1993): 45-50, 267 (1993): 40-46.
- Crocetta F, Bonomolo G, Albano PG, Barco A, Houart R, Oliverio M (2012) The status of the northeastern Atlantic and Mediterranean small mussel drills of the *Ocenebrina*

- aciculata* complex (Mollusca: Gastropoda: Muricidae), with the description of a new species. *Scientia Marina*, 76: 177- 189.
- Curini Galletti M, Palazzi S, (1980a) Note al Trochidae, IV. Riscoperta di *Trochus fraterculus* Monterosato (1878) 1879. *Bollettino Malacologico*, 16 (11-12): 391-396.
- Curini-Galletti M (1982) Note ai Trochidae: VIII. *Jujubinus dispar* n. sp. *Atti della Società Toscana di Scienze Naturali Memorie*, serie B 89: 87-97.
- Darmoul B, Vitiello P, Hadj Ali Salem M (1978) Impact des rejets de l'industrie de transformation du minéral De phosphate sur l'environnement marin (golfe De Gabès, Tunisie). IVèmes. Journées d'études sur les Pollutions Antalya. *Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Méditerranée*, 4 : 343-345
- Darmoul B, Hadj Ali Salem M, Vitiello P (1980) Effects des rejets industriels de la région de Gabès (Tunisie) sur le milieu marin récepteur. *Bulletin de l'Institut National des Sciences et Technologies de de l'Océanographie et de Pêche*, Salammbô, 7: 6-61.
- Darmoul B (1988) Pollution dans le golfe de Gabès (Tunisie). Bilan de six années de surveillance (1976-1981). *Bulletin de l'Institut National des Sciences et Technologies de de l'Océanographie et de Pêche*, Salammbô, 15 : pp. 61-83.
- Danovaro R, Company JB, Corinaldesi C, D'Onghia G, Galil B, Gambi C, Gooday AJ, Lampadariou N, Luna GM, Morigi C, Olu K, Polymenakou P, Ramirez- Llodra E, Sabbatini A, Sardà F, Sibuet M, Tselepides (2010) Deep-sea biodiversity in the Mediterranean Sea: the known, the unknown, and the unknowable. *PLoS One* 5(8): e11832. doi: 10.1371/journal.pone.0011832
- Darwin C (1839) *Journal of researches into the geology and natural history of the various countries visited by HMS Beagle, under the command of Captain Fitzroy, RN from 1832 to 1836*. Henry Colburn, London.
- Dautzenberg Ph (1883) Liste de coquilles du Golfe de Gabès. *Journal de conchyliologie*. 31: 289-330.
- Dautzenberg Ph (1911) Contributions à la faune malacologique méditerranéenne. *Journal de Conchyliologie*, 58: 205-211, pl. 10
- De Queiroz K (1998) The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation: a conceptual unification and terminological recommendations. 57-75 pp. In Howard DJ, Berlocher SH, eds. *Endless Forms: Species and Speciation*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- De Gaillande D (1970a) Notes sur les peuplements benthiques de la zone centrale du golfe de Gabès (campagne Calypso, 1965). *Tethys*, 2 (1): 131-138.

- De Gaillande D (1970b) Peuplements benthiques de l'herbier de *Posidonia oceanica* (Delile), de la pelouse à *Caulerpa prolifera* Lamouroux du large du golfe de Gabès. *Tethys*, 2(2): 373-383.
- Drira Z (2006) Contribution à la compréhension du fonctionnement du golfe de Gabès: Etude des caractéristiques dynamiques et structurales des communautés phyto-zooplanctoniques en relation avec la variabilité environnementale et les caractéristiques hydrographiques des zones côtières et océaniques. Thèse de doctorat, 173p.
- Emig CC, Geistdoerfer P (2004) Faune profonde en Mer Méditerranée : les échanges historiques, géographiques et bathymétriques. *Carnets de Géologie / Notebooks on Geology* - (CG2004_A01_CCE-PG).
- Francour P, Poulain M, Bernard G, Bonhomme P, Charbonnel E (1997) Impact des mouillages forains sur l'herbier à *Posidonia oceanica* dans le Parc national de Port-Cros (Méditerranée Nord-occidentale). Contrat Parc national de Port-Cros et GIS Posidonie, 1-51 p.
- Galil BS, Boero F, Campbell ML, Carlton JT, Cook E, Fraschetti S, Gollasch S, Hewitt CL, Jelmert A, Macpherson E, Marchini A, McKenzie C, Minchin D, Occhipinti-Ambrogi A, Ojaveer H, Olenin S, Piraino S, Ruiz GM (2014) 'Double trouble': the expansion of the Suez Canal and marine bioinvasions in the Mediterranean Sea. *Biological Invasions* DOI 10.1007/s10530-014-0778, 1-4.
- Galil BS, Marchini A, Occhipinti-Ambrogi A, Minchin D, Narscius A, Ojaveer H, Olenin S (2014) International arrivals: widespread bioinvasions in European seas. *Ethology Ecology and Evolution*, 26(2-3): 152-171.
- Galil BS, Marchini A, Occhipinti-Ambrogi A. (sous presse). East is east and West is west? Management of marine bioinvasions in the Mediterranean Sea, Estuarine, Coastal and Shelf Science (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecss.2015.12.021>
- Galindo LA, Puillandre N, Strong EE, Bouchet P (2014) Using microwaves to prepare gastropods for DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources*, 14: 700-705.
- Ghisotti F (1972a) Le conchiglie del golfo di Gabès (prima parte) *Conchiglie*, 8:63-89.
- Ghisotti F (1972b) Le conchiglie del golfo di Gabès (seconda parte) *Conchiglie*, 8:101-113.
- Ghisotti F, Melone GC (1975) Catalogo illustrato delle conchiglie marine del Mediterraneo, V. suppl. *Conchiglie*, II: 147-208.
- Gofas S (1991) Un nouveau *Jujubinus* d'Angola. *Apex* 6(1): 21-24.
- Gofas S (1998) Marine molluscs with a very restricted range in the Strait of Gibraltar. *Diversity and Distributions*, 4: 255-266.

- Gofas S, Moreno D, Salas C (eds) (2011a) Moluscos marinos de Andalucía: Volumen I. Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico Universidad de Málaga, Málaga, 342 p.
- Gofas S, Moreno D, Salas C (eds) (2011b) Moluscos marinos de Andalucía: Volumen II. Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico, Universidad de Málaga, Málaga, I-XII, 343-798
- Golani D, Ritte U (1999) Genetic relationships in goatfishes (Mullidae: Perciformes) of the Red Sea and the Mediterranean, with remarks on Suez Canal migrants. *Scientia Marina* 63:129–135.
- Gomei M, Di Carlo G (2012) Assurer l'efficacité des aires marines protégées. Leçons tirées en Méditerranée. WWF Méditerranée. 56 pages
- Goya JC (2008) Catálogo de los bivalvos marinos del sector central del Golfo de Valencia (España). *Iberus*, 26: 69–80.
- Guillaumont B, Ben mustapha S, Ben moussa H, Zaouali J, Soussi N, Ben Mammou A, Cariou C (1995) Pollution impact study in Gabes Gulf (Tunisia) using remote sensing data. *Marine Technology Society journal*, 29 (2): 46-58.
- Hamza A (2003) Le statut du phytoplancton dans le golfe de Gabès. Thèse de Doctorat, Université de Sfax, 298pp.
- Hassan M, Harmelin-Vivien M, Bonhomme F (2003) Lessepsian invasion without bottleneck: example of two rabbitfish species (*Siganus rivulatus* and *Biology*). *Journal of experimental marine biology and ecology*, 291: 219–232.
- Hare MP (2001) Prospects for nuclear gene phylogeography. *Trends in Ecology & Evolution*. 16: 700-706.
- Harding JM, Kingsley-Smith P, Savini D, Mann R (2007) Comparison of predation signatures left by Atlantic oyster drills (*Urosalpinx cinerea* Say, Muricidae) and veined rapa whelks (*Rapana venosa* Valenciennes, Muricidae) in bivalve prey. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 352: 1–11.
- Harmelin JG., Bitar G. & Zibrowius H. 2016. High xenodiversity versus low native diversity in the south-eastern Mediterranean: bryozoans from the coastal zone of Lebanon. *Mediterranean Marine Science*, 17(2): 417-439.
- Hattour A (1991) Le chalutage dans les eaux tunisiennes, réalités et considérations législatives particulièrement dans les golfes de Tunis et de Gabès. Notes Institut National Scientifique et Technique d'Océanographie et de Pêche, 1: 28 pp.

- Hattour A, Ben Mustapha K, Turki B, Mhetli M, Tritar B, (1995) L'écosystème du golfe de Gabès. *Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Méditerranée*, 33-34.
- Hattour A, Ben Mustapha K, (2013) Le couvert végétal marin du golfe de Gabès: Cartographie et réseau de surveillance de l'herbier de Posidonie. Publication de l'Institut National des Sciences et Technologies de la Mer, 151 pp.
- HattabT, Ben Rais F, Albouyb C, Romdhanea MS, Jarboud O, HalouaniaG, Curyb P, Le Lo F (2013) An ecosystem model of an exploited southern Mediterranean shelf region (Gulf of Gabes, Tunisia) and a comparison with other Mediterranean ecosystem model properties. *Journal of Marine Systems*, 128: 159–174
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR (2003a). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270:313- 21
- Hebert PD, Gregory TR (2005) The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic Biology*, 54:852-9.
- Hebert PDN, Ratnasingham S, DeWaard JR (2003) Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270: S96-S99.
- Houart R (2000) New species of Muricidae (Gastropoda) from the northeastern Atlantic and the Mediterranean sea. *Zoosystema*, 22(3): 459-469.
- Houart R (2001) A review of the recent Mediterranean and Northeastern Atlantic species of Muricidae. Rome: *Evolver*, 227 pp.
- Hogg ID, Hebert PDN (2004) Biological identification of springtails (Hexapoda: Collembola) from the Canadian Arctic, using mitochondrial DNA barcodes. *Canadian Journal of Zoology*. 82: 749-754.
- Hollander J, Collyer ML, Adams DC, Johannesson K (2006) Phenotypic plasticity in two marine snails: constraints superseding life history. *Journal of Evolutionary Biology*, 19: 1861-1872.
- Jobb G, von Haeseler A, Strimmer K (2004) Treefinder: a powerful graphical analysis environment for molecular phylogenetics. *BMC Evolutionary Biology*, 18 p.
- Jovelin R, Justine JL (2001) Phylogenetic relationships within the Polyopisthocotylean monogeneans (Plathyhelminthes) inferred from partial 28S rDNA sequences. *International Journal for Parasitology*, 31: 393-401.
- Keen AM (1971) A review of the Muricea. *Echo*, 4: 35–36.

- Knowlton N (2000) Molecular genetic analyses of species boundaries in the sea. *Hydrobiologia*, 420: 73-90.
- Ktari-Chakroun F, Azouz A (1971) Les fonds chalutables de la région sud-est de la Tunisie (golfe de Gabès). *Bulletin de l'Institut national scientifique et technique d'océanographie et de pêche*, Salammbô, (2)1: 5-47.
- Lacombe H, Tchernia P (1972b) Caractères hydrologiques et circulation des eaux en Méditerranée. In: The Mediterranean Sea, DJ. Stanley ed., Dowden Hutchinson and Ross, Strousberg, 25-36.
- La Perna R (2005) A gigantic deep-sea Nucinellidae from the tropical West Pacific (Bivalvia: Protobranchia). *Zootaxa*, 881: 1-10.
- La Perna R, D'Abramo M (2011) The genus *Nemocardium* Meek 1876 in the Plio-Pleistocene of Italy (Bivalvia, Cardiidae). *Journal de Conchyliologie*, 40: 559-568
- Lahbib S, Hattab T, Sammari C (2011) Marine and Coastal Database Management An Geographical Information System contribution For marine researches: Case of gulf of Gabès, Tunisia in Coast Gis 2011, 10th international symposium on Gis and Computer Mapping for Coastal Management. *Marine Spatial Planning*, 74-82.
- Laubier L, Emig CC (1993) La faune benthique profonde de Méditerranée. In: Della Croce FR (ed.), Symposium Mediterranean Seas 2000. Istituto de Scienze ambientale marina, S. Margherita Ligure, 397-428 pp.
- Le Danois E (1925) Recherches sur les fonds chalutables des côtes de Tunisie (croisière du chalutier "tanche" en 1924). *Annales - Station océanographique de Salammbô*, 1: 1-56
- Lozouet P (2014) Temporal and latitudinal trends in the biodiversity of European Atlantic Cenozoic gastropod (Mollusca) faunas. A base for the history of biogeographic provinces. *Carnets de Géologie [Notebooks on Geology]*, Brest, vol. (14)14: 273-314.
- Maggi P (1973) Le problème de la disparition des herbiers à Posidonies dans le golfe de Giens (Var). *Science et Pêche*, 22: 7-20.
- Mariottini P, Di Giulio A, Appolloni M, Smriglio C (2013) Phenotypic diversity, taxonomic remarks and updated distribution of the Mediterranean *Jujubinus baudoni* (Monterosato, 1891) (Gastropoda: Trochidae). *Biodiversity Journal*, 4 (2): 343-354.
- Mayr E (1942) Systematics and the origin of species. Columbia University Press, New York.
- Mazziotti C, Agamennone F, Tisselli M (2008) Checklist della malacofauna delle isole Tremiti (medio adriatico). *Bollettino malacologico*, 44: 71– 86
- Mélières MA, Maréchal C (2010). Climats et sociétés. Climats passés, passage de l'homme, climat futurs: repères essentiels. In : Collection Focus. CRDP de l'Académie de Grenoble.

- 366 p. Menge JL (1974) Prey selection and foraging period of the predaceous rocky intertidal snail, *Acanthina punctulata*. *Oecologia*, 17: 293-316.
- Meyer CP, Paulay G (2005). DNA Barcoding: Error Rates Based on Comprehensive Sampling. *Public Library of Science Biology* 3: 2229-2238.
- Miller AR, Stanley DJ (1965) Volumetric T/S diagrams for the Mediterranean Sea, *Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Méditerranée*, XVII: 755-759.
- Millot C (1985) Some features of the Algerian Current. *Journal of Geophysical Research*, 90 (4): 7169–7176
- Millot C, Taupier-Letage I (2005) Additional evidence of LIW entrainment across the Algerian Basin by mesoscale eddies and not by a permanent westward-flowing vein. *Progress in Oceanography* 66: 231–250
- Monterosato TA (1879) Enumerazione e sinonimia delle conchiglie mediterranee. Monografia dei Chitonidi del Mediterraneo. *Giornale di Scienze Naturali ed Economiche di Palermo* 14: 23 pp.
- Monterosato TA (1880) Notizie intorno ad alcune conchiglie delle coste d'Africa. *Bullettino della Società Malacologica Italiana*, 5: 213-233.
- Monterosato TA (1884) Nomenclatura generica e specifica di alcune conchiglie mediterranee. Palermo, *Virzi*: 46 pp
- Modica MV, Holford M (2010) The Neogastropoda: evolutionary innovations of predatory marine snails with remarkable pharmacological potential. In: Pontarotti, P. (Ed.), *Evolutionary Biology – Concepts, Molecular and Morphological Evolution*. Springer, Berlin, 249–270.
- Molinier R, Picard J (1954) Eléments de bionomie marine sur les côtes de la Tunisie. *Bulletin - Station océanographique de Salammbô* (Tunisie), 48: 3-47 + fig. 1-6.
- Morton B (1999) Competitive grazers and the predatory whelk *Lepsiella flindersi* (Gastropoda: Muricidae) structure a mussel bed (*Xenostrobus pulex*) on a southwest Australian shore. *Journal of Molluscan Studies*, 65: 435–452.
- Morton B (2004) Predator-prey interactions between *Lepsiella vinosa* (Gastropoda: Muricidae) and *Xenostrobus inconstans* (Bivalvia: Mytilidae) in a southwest Australian marsh. *Journal of Molluscan Studies*, 70: 237–245.
- Myers N, Mittermeier R, Mittermeier C, Da Fonseca G, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 6 p (URL <http://www.nature.com>).

- Nordsieck F (1973) The genus *Jujubinus* Monterosato 1884 in Europa. *La Conchiglia*, 4 (50): 6–7, 10–12.
- Oliverio M (1994) Developmental vs genetic variation in two Mediterranean rissoid gastropod complexes. *Journal of Molluscan Studies*, 60: 461–465.
- Oliverio M (1996) Life-histories, speciation, and biodiversity in Mediterranean prosobranch gastropods. *Vie et Milieu*, 46:163-169.
- Ovchinnikov I (1966) Circulation in the surface and intermediate layers of the Mediterranean. *Okeanologiya*, 6 (1): 48-59.
- Öztürk B, Buzzurro G, Benli A (2004) Marine molluscs from Cyprus: new data and checklist. *Bollettino Malacologico*, 39: 49–78.
- Pallary P (1904) Addition à la faune malacologique du Golfe de Gabès. *Journal de Conchyliologie* 52: 212-248.
- Pallary P (1906) Addition à la faune malacologique du Golfe de Gabès (2eme articles). *Journal de Conchyliologie*, 54: 77-123.
- Payraudeau BC (1826) Catalogue descriptif et méthodique des Annélides et des Mollusques de l'île de Corse, 218 pp.
- Pfenninger M, Cordellier M, Streit B (2006). Comparing the efficacy of morphologic and DNA-based taxonomy in the freshwater gastropod genus *Radix* (Basommatophora, Pulmonata). *BMC Evolutionary Biology*, 6:100.
- Peharda M, Morton B (2005) Experimental prey species preferences of *Hexaplex trunculus* (Gastropoda: Muricidae) and predator–prey interactions with the black mussel *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia: Mytilidae). *Marine Biology*, 148: 1011–1019
- Peñas A, Rolan E, Luque AA, Templado J, Moreno D, Rubio F, Salas C, Sierra A, Gofas S (2006) Moluscos marinos de la isla de Alboran. *Iberus*, 24 (1): 23-151.
- Peñas A, Rolan E, Almera J (2009) Fauna malacologica de un fondo detrítico fangoso en El Maresma, Barcelona (nordeste de la Península Ibérica). *Iberus*, 27:19–56
- Pergent-Martini C, Leoni V, Pasqualini V, Ardizzone, GD, Balestri E, Bedini R, Belluscio A, Belsher T, Borg, J, Boudouresque, CF, Bouquegneau JM, Buia MC, Calvo S, Cebrian J, Chabonnel E, Cinelli F, Cossu A, Di Maida G, Dural B, Francour P, Gobert S, Lepoint G, Meinesz, A, Molenaar H, Mansour HM, Panayotidis P, Peirano A, Pergent G, Piazza L, Pirrotta M, Relini G, Romero J, Sanchez-Lizaso JL, Semroud R, Shembri P, Shili A , Tomasello A, Velimirov B (2005) Descriptors of *Posidonia oceanica* meadows: Use and application. *Ecological Indicators*, 5: 213-230.

- Pergent G, Romero J, Pergent-Martini C, Mateo MA, Boudouresque CF (1994) Primary production, stocks and fluxes in the mediterranean seagrass *Posidonia oceanica*. *Marine Ecology Progress*. 106: 139-146.
- Poizat C (1970) Hydrodynamisme et sédimentation dans le golfe de Gabès (Tunisie). *Tethys*, 2 (1): 267-296
- Puillandre N (2008) Taxonomie intégrative des Turridae: phylogénie, délimitation d'espèces et barcoding. 229 pp. Thèse de doctorat, Systématique et Evolution. Muséum national d'Histoire naturelle, Paris.
- Puillandre N., Baylac M., Boisselier M.C., Cruaud C. and Samadi S. (2009) An integrative approach of species delimitation in the genus *Benthomangelia* (Mollusca: Conoidea). *Biological Journal of the Linnean Society*, 96: 696–708.
- Puillandre N, Watkins M, Olivera BM (2010) Evolution of *Conus* peptide genes: duplication and positive selection in the A-superfamily. *Journal of Molecular Evolution*, 70 : 190–202.
- Quignard JP, Ben Othman S (1978) Les poissons du golfe de Gabès: situation actuelle et future. *Bulletin de l'Institut national scientifique et technique d'océanographie et de pêche, Salammbô*, 5 (1-4): 43-52.
- Ramade F (2002) Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement. Paris, Dunod, 1075 p.
- Rolán E, Gori S (2009) Two new species of the genera *Jujubinus* and *Mitrella* (Mollusca, Prosobranchia) from Sao Tomé Island. *Gloria Maris*, 48 (1): 10-16.
- Rolán E, Swinnen F (2009). Two new species of the genus *Jujubinus* (Mollusca, Trochidae) from the Canary Archipelago. *GloriaMaris*, 48(1): 1-9.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19 : 1572–1574
- Rosso JC (1978) Faune malacologique de la plate-forme tunisienne: étude de quelques dragages et carottages effectués à l'intérieur ou au large du golfe de Gabès. *Bulletin de l'Institut national scientifique et technique d'océanographie et de pêche, Salammbô*, 5 (1-4) : 17-41.
- Rosso JC (1979) Etude des organismes. A Mollusques testacés (Macrofaune) in : La mer pélagienne, Burolet PF Clairefond P & Winnock E (ED), *Géologie Méditerranéenne*, 6 (1): 141-170.
- Sabelli B, Taviani M (1980) Réflexions sur les endémiques (mollusques marins) du Golfe de Gabes (Tunisie). *CIESM: Journées d'études sur la systématique évolutive et la biogéographie en Méditerranée*, Cagliari: 149-150.

- Sabelli B, Taviani M. (2014) The making of Mediterranean Molluscan Biodiversity. In: The Mediterranean Sea: Its history and present challenges (S. Goffredo, H. Baader & Z. Dubinsky, eds), *Springer*, pp. 285-316.
- Samadi S, Barberousse A (2006) The tree, the network, and the species. *Biological Journal of the Linnean Society*, 89: 509-521.
- Samadi S, Barberousse A (2009) Species: towards new, well-grounded practices. *Biological Journal of the Linnean Society*, 97: 217-222
- Sammari C, Hattour Komatsu A, Zarrouk T, Ben Mustapha K, El Abed A (2002) *Posidonia oceanica* L. (delile) meadow from messioua banc (Tunisia) *Bulletin. Institut National des Sciences et Technologies de la Mer, Salammbô*, 29 : 37-4029.
- Sammari C, Koutitonsky VG, Moussa M (2006) Sea level variability and tidal resonance in the Gulf of Gabès, *Continental Shelf Research*, 26: 338-350.
- Sardà F, Calafat A, Mar Flexas M, Tselepides A, Canals M, Espino M, Tursi A (2004) An introduction to Mediterranean deep-sea biology. *Scientia Marina*, 68 (1): 7- 38.
- Serbaji MM (2000) Utilisation d'un SIG multi-sources pour la compréhension et la gestion intégrée de l'écosystème côtier de la région de Sfax (Tunisie). Thèse de doctorat de spécialité en Sciences Géologiques, Université de Tunis II – FST, 232p.
- Seurat LG. (1924) - Observations sur les limites, les faciès et es associations de l'étage intercotidal de la petite Syrte (Golfe de Gabès) *Bulletin - Station océanographique de Salammbô*, 3: 72p.
- Seurat LG (1929a) - La petite pintadine du Golfe de Gabès. *Bulletin – Station d'Aquaculture et de Pêche*, Castiglione, 1: 9-28.
- Seurat LG (1929b). Observations nouvelles sur les faciès et les associations animales de l'étage intercotidal de la petite Syrte. *Bulletin - Station océanographique de Salammbô*, 12 : 59 p.
- Seurat LG (1934) Formations littorales et estuaires de la Syrte mineure (Golfe de Gabès). *Bulletin - Station océanographique de Salammbô*, 32: 65 p.
- Simpson RD (1977) The reproduction of some littoral molluscs from Macquarie Island (sub-Antarctic). *Marine Biology*, 44: 125–142
- Smriglio C, Di Giulio A, Mariottini P (2014) Description of two new *Jujubinus* species (Gastropoda: Trochidae) from the Sicily Channel, with notes on the *Jujubinus curinii* species complex. *Zootaxa*, 3815(4): 583–59.

- Smriglio C, Mariottini P, Oliverio M (2015) A new species of the *Jujubinus curinii* species complex: *J. alboranensis* spec. nov. (Gastropoda: Trochidae) from the Alborán Sea. *Iberus*, 33(2): 151-157.
- Soppelsa O, Crocetta F, Fasulo G (2007) I molluschi marini di Punta Pioppeto (Isola di Procida – Campania). *Bollettino Malacologico*, 43: 21–32.
- Spanu MT (2011) Prima segnalazione di *Jujubinus baudoni* (Monterosato, 1891 ex H. Martin ms) (Gastropoda: Trochidae) per la Sardegna e le acque italiane. *Bollettino Malacologico*, 47: 135-137.
- Stjepčević J, Parenzan P (1980) Il golfo delle Bocche di Cattaro – condizioni generali e biocenosi bentoniche con carta ecologica delle sue due baie interne: di Kotor (Cattaro) e di Risan (Risano). *Studia Marina*, 9–10: 3–146.
- Taviani M (1981) Discussion. Journée d'étude systématique et évolution Biogéographie Méditerranéenne, Cagliari CIESM.
- Taviani M (2002) The Mediterranean benthos from late Miocene up to present: ten million years of dramatic climatic and geologic vicissitudes. *Biologia Marina Mediterranea*, 9: 445-463.
- Taviani M, Bouchet P, Metivier B, Fontugne M, Delibrias G (1991) Intermediate steps of southwards faunal shifts testified by last glacial submerged thanatocoenoses in the Atlantic Ocean. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 86: 331-338.
- Taylor JD, Morris NJ, Taylor CN (1980) Food specialization and the evolution of predatory prosobranch gastropods. *Paleontology*, 23: 375–409.
- Tenekides NS (1989) On a collection of shells from the Greek Seas. 187p.
- Thiele J (1929) Handbuch der Systematischen Weichtierkunde, vol. 2. *Gustav Fischer, Stuttgart*, 1-1154.
- Tourenne M, Ziemski F (2014) Données d'Observations pour la Reconnaissance et l'Identification de la faune et la flore Subaquatiques. <http://doris.ffessm.fr/Especies/Fissurelle>
- Taupier-Letage I, Millot C (1987) Some particular aspects of the circulation in the Algerian Basin. *Oceanologica Acta*, Special Issue, 9: 79-87.
- Templado J (2004) Las praderas de Fanerogamas marinas introduccion. In: Luque A.A. Templado J. edits. Praderas y bosques marinos de Andalucía. Consejería de medio Ambiente. *Junta de andalucia publicaciones*, Sevilla: 57-59.
- Terreni G (1981) Molluschi conchiferi del mare antistante la costa toscana (Gastropoda, Scaphopoda, Amphineura, Bivalvia, Cephalopoda). Benvenuti e Cavaciocchi, Livorno

- Villèle X, Verlaque M (1995) Changes and degradation in a *Posidonia oceanica* bed invaded by the introduced tropical alga *Caulerpa taxifolia* in the North Western Mediterranean. *Botanica Marina*, 38: 79-87. In A review of the mechanisms structuring seagrass communities. Craigd. R (1997) WWW.fiu.edu/~crose01/pages/papers/rose 97a.html.
- Vazzana A (2010) La malacofauna del circalitorale di Scilla (Stretto di Messina). *Bollettino Malacology*, 46:65–74
- Vio E, De Min R (1996) Contributo alla conoscenza dei Molluschi marini del golfo di Trieste. *Atti del museo civico di storia naturale di Trieste*, 47: 173–233.
- Vogler AP, Monaghan MT (2007) Recent advances in DNA taxonomy. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 45: 1-10.
- Wenz W (1941) Prosobranchia. In: Schindewolf, O.H. (Ed.), *Handbuch der Paläozoologie*, vol. 6. Gebrüder Borntraeger, 961–1200.
- Whittaker R (1998) *Island Biogeography*, New York, Oxford University Press, 277 p.
- Wiley EO (1981) *Phylogenetics: the theory and practice of phylogenetic systematics*. John Wiley & Sons. *Systematic Zoology*, 31(1): 98-100.
- Wu SP, Hwang CC, Lin YS (2005) The asymmetric divergence of morphological and genetic variations in the endemic camaenid landsnail species. In: *Barcoding of life: Scientific Conference*, London.
- Zaouali J (1993) Les peuplements benthiques de la petite Syrte, golfe de Gabès Tunisie. Résultats de la campagne de prospection du mois de juillet 1990. Etude préliminaire biocoenoses et thanatocoenoses récentes. *Marine Life*, 3 (1-2): 47-60.

Annexes

Annexe 1. Liste des spécimens séquencés dans le genre *Jujubinus*. Les numéros de d'inventaire MNHN et les localités sont indiqués, (Chapitre III, 3.2)

Identification taxonomique	No. voucher	Localités	Coordonnées GPS	COI	28S
<i>J. karpathoensis</i>	IM-2013-32755	Mer Egée, Néo Peramos	40°50'51.7"N 24°18'50.9"E	x	
<i>J.cf. striatus</i>	IM-2013-32869	Espagne, Cabos de Palos	37°38'08.0"N 0°41'30.4"W	x	x
<i>J. striatus</i>	IM-2013-32668	Italie, Fettovaia, Ile d'Elbe	42°43'58.1"N 10°09'13.1"E	x	x
<i>J. striatus</i>	IM-2013-32670	Italie, Fettovaia, Ile d'Elbe	42°43'58.1"N 10°09'13.1"E	x	x
<i>J. fraterculus</i>	IM-2013-31801	Djerba, Borj Djellij	33°53'09.2"N, 10°44'38.6"E	x	
<i>J. fraterculus</i>	IM-2013-31802	Djerba, Borj Djellij	33°53'09.2"N, 10°44'38.6"E	x	x
<i>J. fraterculus</i>	IM-2013-31891	Djerba, Sidi Jmour	33°49'53.6"N 10°44'50.7"E	x	x
<i>J. fraterculus</i>	IM-2013-31920	Djerba, Sidi Solimen	33°53'09.2"N, 10°44'38.6"E	x	
<i>J. fraterculus</i>	IM-2013-31923	Djerba, Sidi Solimen	33°53'09.2"N, 10°44'38.6"E	x	
<i>J. fraterculus</i>	IM-2013-31988	Djerba, Sidi Jmour	33°49'53.6"N 10°44'50.7"E	x	
<i>J. fraterculus</i>	IM-2013-32000	Djerba, Sidi Jmour	33°49'53.6"N 10°44'50.7"E	x	
<i>J. fraterculus</i>	IM-2009-32113	Djerba, Sidi Jmour	33°49'53.6"N 10°44'50.7"E	x	
<i>J. corallinus</i>	IM-2013-32663	Italie, Fettovaia, Ile d'Elbe	42°43'58.1"N 10°09'13.1"E	x	x
<i>J. corallinus</i>	IM-2013-32743	La Ciotat, Calanque de Figuerolles	36°34'18.7"N, 26°30'14.3"E	x	
<i>J. corallinus</i>	IM-2013-32746	Mer Egée, Halkidiki	40°04'46.2"N 23°45'48.7"E	x	x
<i>J. corallinus</i>	IM-2013-32751	Mer Egée, Halkidiki	40°04'46.2"N 23°45'48.7"E	x	
<i>J. exasperatus</i>	IM-2013-32744	La Ciotat, Calanque de Figuerolles	36°34'18.7"N, 26°30'14.3"E	x	
<i>J. exasperatus</i>	IM-2013-31944	Djerba, Sidi Solimen	33°53'09.2"N, 10°44'38.6"E	x	
<i>J. exasperatus</i>	IM-2013-32121	Djerba, Sidi Jmour	33°49'53.6"N 10°44'50.7"E	x	x
<i>J. exasperatus</i>	IM-2013-32107	Djerba, Sidi Jmour	33°49'53.6"N 10°44'50.7"E	x	x
<i>J. exasperatus</i>	IM-2013-32667	Italie, Fettovaia, Ile d'Elbe	42°43'58.1"N 10°09'13.1"E	x	
<i>J. exasperatus</i>	IM-2013-32749	Mer Egée, Halkidiki	40°04'46.2"N 23°45'48.7"E	x	
<i>J. exasperatus</i>	IM-2013-32666	Italie, Fettovaia, Ile d'Elbe	42°43'58.1"N 10°09'13.1"E	x	
<i>J. exasperatus</i>	IM-2013-32680	Espagne, Cabos de Palos	37°38'08.0"N 0°41'30.4"W	x	
<i>J. exasperatus</i>	76J	Espagne, Cabos de Palos	37°38'08.0"N 0°41'30.4"W	x	
<i>J. exasperatus</i>	GQ232368	_GenBank	—		

Annexe 2. Liste des spécimens séquencés dans le genre *Ocenebrina*. Les numéros d'inventaire MNHN et les localités sont indiqués (Chapitre VI, 6.1)

Identification taxonomique	No. Voucher	Localités	Coordonnées GPS
<i>O. hispidula</i>	BAU 1048_5	Tunisie, Djerba, Borj kastil	33°41'00"N, 010°51'27"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1049_6	Italie, Siracuse, harbour	33°04'N, 015°17'E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1050_5	Croatie, Murter	43°47'48"N, 015°36'34"E
<i>O. piantonii</i>	BAU 1051_1	Tunisie, Kerkennah, Ras Bou Numeh	34°47'00"N, 011°12'56"E
<i>O. carmelae</i>	BAU 1052_1	Tunisie, Kerkennah, Borj l Hissar	34°42'42"N, 011°09'06"E
<i>O. hispidula</i>	BAU 1053_1	Tunisie, Kerkennah, Ras Amir	34°40'60"N, 011°07'00"E
<i>O. hispidula</i>	BAU 1054_1	Tunisie, Kerkennah, Kraten	34°43'N, 011°11'E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1055_7	Grèce, Milos	36°39'43"N, 024°25'41"E
<i>O. edwardsii</i> (partim) <i>O. nicolai sensu</i> Rolan (1983)	BAU 1063_4	Espagne, Grove	42°30'N, 008°52'W
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1064_1	Croatie, Cres Island, Punta Criza	44°38'29"N, 014°30'20"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1065_5	Portugal, Péniche	39°22'15"N, 009°22'18"W
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1106_4	Italie, Sardaigne	39°59'15"N, 009°41'26"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1107_3	Italie, Zannone	40°57'54"N, 013°03'26"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1109_3	Italie, Marettimo, Punta Mignone	37°59'15"N, 012°01'28"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1280_5	Espagne, Benelmadena	36°35'03"N, 004°31'07"W
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1281_1	Espagne, Calahonda	36°29'04"N, 004°41'08"W
<i>O. nicolai sensu</i> Gofas (2011)	BAU 1282_2	Espagne, Barbate	36°11'00"N, 005°56'09"W
<i>O. lokos</i>	BAU 1290_2	Espagne, Tenerife	22°28'00"N, 016°47'00"W
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1291_3	Espagne, Tenerife	28°20'31"N, 016°55'23"W
<i>O. nicolai sensu</i> Afonso et al 2010	BAU 1294_1	Portugal, Ponta Di Piedade	37°03'32"N, 008°38'54"W
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1295_6	Italie, Cefalu	38°00'57"N, 014°06'55"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1296_3	France, Corse	41°36'N, 009°17'E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1298_6	Grèce, Kavala	40°54'49"N, 024°22'42"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1300_4	Italie, Palimuro	40°02'07"N, 015°17'07"E

<i>O. edwardsii</i>	BAU 1308_3	Italie, Sardaigne	39°11'28"N, 009°09'53"E
<i>O. miscowichae</i>	BAU 1133_5	Maroc, Dakhla	23°41'N, 015°55'W
<i>O. aciculata</i>	BAU 1060_6	Espagne Baiona	42°06'40"N, 008°53' 57"W
<i>O. aciculata</i>	BAU 1037_1	Italie, Tor Paterno	41°36'18"N, 012°20'30"E
<i>O. aciculata</i>	BAU 1042_1	Italie, Tor Paterno	41°36'21"N, 012°20'28"E
<i>O. reinai</i>	BAU 1038_1	Italie, Tor Paterno	41°36'13"N, 012°20'30"E
<i>O. reinai</i>	BAU 1039_1	Italie, Tor Paterno	41°36'13"N, 012°20'30"E
<i>O. ingloria</i>	BAU 902_5	Italie, Lagune de Venise	45°17'18"N, 012°16'18"E
<i>O. hispidula</i>	BAU 903_5	Tunisie, Djerba, Adjim	33°41'49"N, 010°47'25"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 904_5	Italie, Augusta, Megara	37°13'50"N, 015°13'27"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 905_3; 923_4	Italie, Marzamemi	36°44'30"N, 015°07'03"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 907_11	Italie, Siracuse, Punta Asparano	36°59'32"N, 015°15'41"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 909_16	Italie, Lampedusa	35°29'43"N, 012°37'26"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 920_3 ; 1299_7	Italie, Puzzuoli	40°49'18"N, 014°07'08"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 921_2	Italie, Bacoli, Punta Penneta	40°47'35"N, 014°05'11"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 922_7	Italie Marina Schiavonea	39°38'29"N, 016°34'00"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 924_4	Italie, Marsela	37°47'50"N, 012°25'45"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 927_6	Grèce, Limnos	39°49'58"N, 025°15'55"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 936_3	Grèce, Lygaria	35°23'56"N, 025°01'41"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 965_1; 1158_1	Espagne, Baiona	42°06'40"N, 008°53'57"W
<i>O. edwardsii</i> (partim) <i>O. nicolai sensu</i> Rolan (1983)	BAU 1059_10 ; 1061, 1062_2	Espagne, Baiona	45°27'14"N, 013°31'03"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 959_4	Croatie, Crvar	45°27'56"N, 013°30'31"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 960_6	Croatie, Katoro	40°00'01"N, 017°59'37"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 961_4	Italie, Gallipoli	45°36'20"N, 013°43'10"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 962_3	Italie Muggia	42°13'52"N, 008°42'44"W
<i>O. edwardsii</i> (partim) <i>O. nicolai sensu</i> Rolan (1983)	BAU 963_1 ; 1033_5	Espagne, Vigo	37°59'21"N, 012°13'55"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 969_2	Italie, Marettimo	40°18'03"N, 017°30'13"E

Les mollusques ddu golfe de Gabès – Annexes

<i>O. edwardsii</i>	BAU 1026_4	Italie, Campomarino	45°27'02"N, 013°30'45"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1029_2	Croatie, Umag,	34°42'N, 010°42'E
<i>O. hispidula</i>	BAU 1044_5	Tunisie, Sfax	41°47'14"N, 016°11'22"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1045_5	Italie Pugnochiuso	45°15'13"N, 012°17'57"E
<i>O. edwardsii</i>	BAU 1046_5, 1293_7	Italie, Pellestrina	45°15'13"N, 012°17'57"E
<i>O. edwardsii</i>	IM-2013- 32762	Grèce, mer Egée, Limnos	33°49'53.6"N 10°44'50.7"E
<i>O. edwardsii</i>	IM-2013-32764	Grèce,mer Egée, Limnos	33°49'53.6"N 10°44'50.7"E
<i>O. edwardsii</i>	IM-2013- 32763	Grèce, mer Egée, Limnos	33°49'53.6"N 10°44'50.7"E
<i>O. edwardsii</i>	IM-2013-32766	Grèce, mer Egée, Limnos	33°49'53.6"N 10°44'50.7"E
<i>O. hispidula</i>	IM-2013-31981	Tunisie, Djerba,Adjim	33°41'49"N, 010°87'25"E
<i>O. hispidula</i>	IM-2009-30880	Tunisie, Djerba, Adjim	33°41'49"N, 010°87'25"E
<i>O. hispidula</i>	IM-2013-32025	Tunisie, Djerba, Adjim	33°41'49"N, 010°87'25"E
<i>O. hispidula</i>	IM-2013-32032	Tunisie, Djerba, Adjim	33°41'49"N, 010°47'25"E
<i>O. hispidula</i>	IM-2013-32030	Tunisie, Djerba, Adjim	33°41'49"N, 010°47'25"E
<i>O. hispidula</i>	IM-2013- 32026	Tunisie, Djerba, Adjim	33°41'49"N, 010°47'25"E
<i>O. hispidula</i>	IM-2013-32018	Tunisie, Djerba, Adjim	33°41'49"N, 010°47'25"E
<i>O. hispidula</i>	IM-2013-32019	Tunisie, Djerba, Adjim	33°41'49"N, 010°47'25"E
<i>O. hispidula</i>	IM-2013-32024	Tunisie, Djerba, Adjim	33°41'49"N, 010°47'25"E
<i>O. hispidula</i>	IM-2013- 32023	Tunisie, Djerba, Adjim	33°41'49"N, 010°47'25"E
<i>O. hispidula</i>	IM-2013-32022	Tunisie, Djerba, Adjim	33°41'49"N, 010°47'25"E
<i>O. hispidula</i>	IM-2013- 32021	Tunisie, Djerba, Adjim	33°41'49"N, 010°47'25"E
<i>O. hispidula</i>	IM-2013- 32020	Tunisie, Djerba, Adjim	33°41'49"N, 010°47'25"E
<i>O. edwardsii</i>	IM-2009-5389	Espagne, Barbate	36°11'32.53"N, 5°55'18.70" W
<i>O. edwardsii</i>	IM-2009-5388	Espagne, Barbate	36°11'32.53"N, 5°55'18.70" W
<i>O. edwardsii</i>	IM-2009-5367	Espagne, Barbate	36°11'32.53"N, 5°55'18.70" W
<i>O. edwardsii</i>	IM-2009-5366	Espagne, Barbate	36°11'32.53"N, 5°55'18.70" W
<i>O. edwardsii</i>	IM-2009-5365	Espagne, Barbate	36°11'32.53"N, 5°55'18.70" W
<i>O. edwardsii</i>	IM-2013-32313	Tunisie, Bizerte, Menzel Jmil	37°13'29.7"N 9°55'12.7"E

<i>O. edwardsii</i>	IM-2013-32557	Tunisie, Bizerte, Errimel	37°15'33.1"N 9°54'33.2"E
<i>O. edwardsii</i>	IM-2013-32591	Tunisie, Bizerte, Errimel	37°15'33.1"N 9°54'33.2"E
<i>O. hybrida</i>	IM-2013 -31894	Tunisie, Djerba, Sidi Jmour	33°48'32.2"N 10°43'53.8"E
<i>O. aegensis</i>	IM-2013-32778	Grèce, mer Ionienne, Paxos	39°08'41"N 20°13'39"E
<i>O. aegensis</i>	IM-2013-32780	Grèce, mer Ionienne, Paxos	39°08'41"N 20°13'39"E
<i>O. aegensis</i>	IM-2013-32787	Grèce, mer Ionienne, Paxos	39°08'41"N 20°13'39"E
<i>O. aegensis</i>	IM-2013-31799	Grèce, mer Ionienne, Paxos	39°08'41"N 20°13'39"E

Annexe3. Liste des spécimens séquencés dans le genre *Muricopsis*. Les numéros d'inventaire MNHN et les localités sont indiqués (Chapitre VI, 6.2)

Identification taxonomique	No. Voucher	Localités	Coordonnées GPS
<i>Murexul cevikeri</i>	IM-2013-32756	Mer Egée, Halkidiki, Marmaros	40°00'47.8"N, 23°46'38.2"E
<i>Murexul cevikeri</i>	IM-2013-32757	Mer Egée, Halkidiki, Marmaros	40°00'47.8"N 23°46'38.2"E
<i>Murexul cevikeri</i>	IM-2013-32758	Mer Egée, Halkidiki, Marmaros	40°00'47.8"N 23°46'38.2"E
<i>Murexul cevikeri</i>	IM-2013-32759	Mer Egée, Halkidiki, Marmaros	40°00'47.8"N 23°46'38.2"E
<i>Muricopsis cristata</i>	IM-2013-317 39	Djerba, Houmet Souk	33°53'09.3"N , 10°51'38.5"E
<i>Muricopsis cristata</i>	IM-2013-30841	Djerba, Mellita	33°52'46.9"N , 10°44'11.3"E
<i>Muricopsis cristata</i>	IM-2013-31738	Djerba, Houmet Souk	33°53'09.3"N , 10°51'38.5"E
<i>Muricopsis cristata</i>	IM-2013-31759	Djerba, Borj Djellij	33°53'09.2"N ,10°44'38.6"E
<i>Muricopsis sp</i>	IM-2013-31945	Djerba, Sidi Jmour	33°49'53.6"N 10°44'50.7"E
<i>Muricopsis sp</i>	IM-2013-31946	Djerba, Sidi Jmour	33°49'53.6"N 10°44'50.7"E
<i>Muricopsis sp</i>	IM-2013-31779	Djerba, Borj Djellij	33°53'09.2"N ,10°44'38.6"E
<i>Muricopsis sp</i>	IM-2009-31784	Djerba, Borj Djellij	33°53'09.2"N ,10°44'38.6"E
<i>Muricopsis sp</i>	IM-2013-31778	Djerba, Borj Djellij	33°53'09.2"N ,10°44'38.6"E
<i>Muricopsis sp</i>	IM-2013-31780	Djerba, Borj Djellij	33°53'09.2"N ,10°44'38.6"E
<i>Muricopsis sp</i>	IM-2013-31980	Djerba, Sidi Jmour	33°49'53.6"N 10°44'50.7"E
<i>Muricopsis sp</i>	IM-2013-31781	Djerba, Borj Djellij	33°53'09.2"N ,10°44'38.6"E
<i>Muricopsis sp</i>	IM-2013-31782	Djerba, Borj Djellij	33°53'09.2"N ,10°44'38.6"E
<i>Muricopsis sp</i>	IM-2013-31783	Djerba, Borj Djellij	33°53'09.2"N ,10°44'38.6"E
<i>Muricopsis sp</i>	IM-2013-31785	Djerba, Borj Djellij	33°53'09.2"N ,10°44'38.6"E
<i>Muricopsis sp</i>	IM-2013-31893	Djerba, Sidi Jmour	33°49'53.6"N 10°44'50.7"E
<i>Muricopsis sp</i>	IM-2013-31895	Djerba, Sidi Jmour	33°49'53.6"N 10°44'50.7"E
<i>Muricopsis sp</i>	IM-2013-31916	Djerba, Sidi Solimen	33°53'09.2"N ,10°44'38.6"E
<i>Muricopsis sp</i>	IM-2013-31917	Djerba, Sidi Solimen	33°52'06.2"N 10°58'00.4"E
<i>Muricopsis cf. cristata</i>	IM-2013-32738	La Ciotat, Calanque de Figuerolles	36°34'18.7"N, 26°30'14.3"E
<i>Muricopsis cf. cristata</i>	IM-2013-32739	La Ciotat, Calanque de Figuerolles	36°34'18.7"N 26°30'14.3"E
<i>Muricopsis cf. cristata</i>	IM-2013-32740	La Ciotat ,Calanque de Figuerolles	36°34'18.7"N , 26°30'14.3"E
<i>Muricopsis cf. cristata</i>	IM-2013-32741	La Ciotat ,Calanque de Figuerolles	36°34'18.7"N, 26°30'14.3"E
<i>Muricopsis cf. cristata</i>	IM-2013-32685	Mer Egée, Astypalea,	36°34'18.7"N, 26°30'14.3"E
<i>Muricopsis cf. cristata</i>	IM-2013-32687	Mer Egée, Astypalea	36°34'18.7"N, 26°30'14.3"E
<i>Muricopsis cf. cristata</i>	IM-2013-32688	Mer Egée, Astypalea	36°34'18.7"N, 26°30'14.3"E
<i>Muricopsis cf. cristata</i>	IM-2013-32689	Mer Egée, Astypalea	36°34'18.7"N, 26°30'14.3"E
<i>Muricopsis cf. cristata</i>	IM-2013-32690	Mer Egée, Astypalea	36°34'18.7"N, 26°30'14.3"E
<i>Muricopsis cristata</i>	FN651943.1	Italie, San Pietro	

Annexe 4. Liste des mollusques invasifs recensés le long des côtes tunisiennes, mise-à-jour d'après Gofas (2011), Antit *et al.* (2014), Ben Souissi *et al.* (2016). * indique les présences à confirmer.

Espèces	Auteurs	Origine
Polyplacophora		
<i>Acanthopleura gemmate</i>	(Blainville, 1825)	mer Rouge +Indo-Pacifique
Bivalves		
<i>Anadara transversa</i>	(Say, 1822)	Atlantique Ouest
<i>Arcuatula senhousia</i>	(Benson in Cantor, 1842)	Nord du Pacifique
<i>Crassostrea gigas</i>	(Thunberg, 1793)	Nord Ouest du Pacifique
<i>Fulvia fragilis</i>	(Forsskål in Niebuhr, 1775)	Océan Indien
<i>Pinctada imbricata radiata</i>	(Leach, 1814)	mer Rouge/Indo-Pacifique
<i>Saccostrea cucullata</i>	(Born, 1778)	Indo-Pacifique
<i>Ruditapes philippinarum</i>	(A. Adams & Reeve, 1850)	Nord-Ouest du Pacifique
Gastropodes		
<i>Acteocina mucronata</i>	(Philippi, 1849)	mer Rouge
<i>Alvania dorbignyi</i>	(Audouin, 1826)	Cosmopolite
<i>Bursatella leachii</i>	Blainville, 1817	Circumtropical
<i>Cellana rota</i>	(Gmelin, 1791)	Océan Indien +mer Rouge
<i>Cerithium scabridum</i>	Philippi, 1848	Océan Indien +mer Rouge
<i>Chromodoris quadricolor</i>	(Rüppell & Leuckart, 1830)	mer Rouge
<i>Crepidula fornicata</i>	(Linnaeus, 1758)	Nord Atlantique
<i>Diodora ruppellii</i>	(G. B. Sowerby I, 1835)	mer Rouge +Indo-Pacifique
<i>Erosaria turdus</i>	(Lamarck, 1810)	Océan Indien +mer Rouge
<i>Favorinus ghanensis</i>	Edmunds, 1968	Pacifique Tropical
<i>Melibe viridis</i>	(Kelaart, 1858)	Indo-Pacifique
<i>Mitrella psilla</i>	(Duclos, 1846)	Atlantique
<i>Monetaria annulus</i>	(Linnaeus, 1758)	Indo-Pacifique
<i>Nerita sanguinolenta</i>	Menke, 1829	mer Rouge/Indo-Pacifique
<i>Polycerella emertoni</i>	A. E. Verrill, 1880	Pantropical
<i>Tayuva lilacina</i>	(Gould, 1852)	mer Rouge/Indo-Pacifique
<i>Tornus jullieni</i>	Adam & Knudsen, 1969	Afrique de l'Ouest

Résumé

L'originalité du golfe de Gabès (Sud de la Tunisie) a été reconnue par les malacologistes depuis le 19^{ème} siècle mais reste mal définie. Les espèces de cette région présentent des caractères morphologiques qui ont conduit à l'établissement de variétés, sous-espèces et espèces faiblement caractérisées. Certains auteurs les traitent comme des taxons endémiques tandis que d'autres les considèrent comme de simples variants locaux d'espèces à large répartition méditerranéenne. Le manque d'information concernant la valeur taxonomique de ces caractères morphologiques ne permet pas de traiter de façon robuste la question de l'endémisme dans le golfe de Gabès. Le premier objectif est de réviser le statut taxonomique des mollusques du golfe de Gabès en s'appuyant sur une approche de taxonomie moléculaire. La confrontation des différents caractères a permis d'identifier ceux qui discriminent correctement les individus en espèces, d'éliminer à l'inverse ceux qui ne remplissent pas cette fonction et d'en redéfinir de nouveaux. Le deuxième objectif est de relier les particularités faunistiques du Golfe à ses caractéristiques océanographiques et de discuter les phénomènes de spéciation qui pourraient être à l'origine de l'endémisme. Nos analyses ont porté sur six genres: *Jujubinus* (Trochidae), *Diodora* (Fissurellidae), *Ocinebrina*, *Muricopsis* (Muricidae), *Aplus* (Buccinidae) et *Tritia* (Nassariidae). L'approche intégrative utilisée a permis de proposer des hypothèses de délimitation d'espèces que nous avons ensuite confrontées aux données morphologiques et géographiques. Au final, l'endémisme est confirmé dans certains cas mais l'hypothèse qu'une partie des espèces décrites du golfe de Gabès ne sont que des variétés éco phénotypiques est également attestée. Notre approche moléculaire a mis aussi en évidence l'existence de nouvelles espèces et d'espèces cryptiques insoupçonnées dans la Méditerranée. Finalement l'hypothèse que le golfe de Gabès est un centre de spéciation est retenue. Plus de données moléculaires (reliées à des données fossiles) d'autres groupes provenant de différentes localités (spécialement du golfe de Syrte) apparaissent toutefois nécessaires.

Mots-clés: golfe de Gabès, Méditerranée, endémisme, ABGD, taxonomie, approche intégrative, diversité cryptique

Abstract

The present Mediterranean marine fauna is the result of a history going back to the Messinian Salinity Crisis, with current biogeographical patterns mostly reflecting Quaternary to modern oceanographic conditions. The Gulf of Gabès, in southern Tunisia, is remarkable for its extreme ecological characteristics that distinguish it from "ambient" Mediterranean conditions. Starting with the work of malacologists at the turn of the 19th-20th centuries, the molluscs of the Gulf of Gabès have been recognized as exhibiting morphological characters that set them apart from more typical forms that occur in the rest of the Mediterranean. At present, 6% of the species of the overall Gulf of Gabès mollusc fauna are treated as valid local endemics. Using an integrative taxonomy approach, combining molecular and morphological data, the objective of the study is to re-evaluate the status of these Gulf of Gabès local forms: are they valid, endemic species or do they represent ecophenotypic variation? Given the young geological age (6-8 ka) of the Gulf, where would local endemics have originated? The gastropod genera *Jujubinus* (Trochidae), *Diodora* (Fissurellidae), *Tritia* (Nassariidae) *Ocinebrina* (Muricidae), *Muricopsis* (Muricidae) and *Aplus* (Buccinidae) all have in common non-planktotrophic larval development. Our integrative approach confirms the validity of some of the endemic taxa, but also infirm that others are not valid species; molecular data also reveal unsuspected cryptic lineages both within and outside the Gulf. Regarding the question of the origin of the endemic species, various hypotheses have been proposed, one of them being that the Gulf of Gabès is a "speciation factory". To formally test this hypothesis, more molecular data (coupled with fossil record data) are needed from other species groups and from other localities in the Mediterranean (specifically the Gulf of Syrte).

Key words: gulf of Gabès, Mediterranean Sea, endemism, ABGD, taxonomy, integrative approach, cryptic diversity