

Variabilités morphologique et génétique du Crapaud vert *Bufo viridis* : valeurs systématiques

Jalal EL Oualidi¹ & Hassane Jaziri²

¹ Département de Botanique et écologie végétale, Institut Scientifique B.P. 703, Agdal, Rabat, Maroc. E-mail: eloualidi@israbat.ac.ma

² Laboratoire de Zoologie, Département de Biologie, Faculté des Science, B.P. 1014, Rabat. E-mail: hassanjaziri@hotmail.com.

Résumé. La systématique du Crapaud vert *Bufo viridis* Laurenti 1768, adoptée actuellement, est basée exclusivement sur la morphométrie. Les résultats obtenus dans le présent travail montrent clairement ses limites à trancher dans des situations critiques posées par les statuts taxinomiques de *B. brongersmai* Hoogmoed 1972 et de la population insulaire de Corse (Méditerranée occidentale) de *B. viridis*. L'approche utilisée ici associe les données de morphométrie et de génétique des populations. L'utilisation de l'outil génétique, spécialement des marqueurs allozymiques, comme complément de la morphométrie a apporté des résultats pouvant remettre en cause la systématique périspécifique du Crapaud vert. En effet, malgré un échantillonnage limité, les résultats préliminaires semblent révéler qu'il s'agit plutôt d'un complexe d'espèces.

Mots clés : *Bufo viridis*, systématique, marqueurs allozymiques, morphométrie, concepts biologique et phylogénétique.

Morphological variabilities and Genetic of the green toad *Bufo Viridis*: Systematic values.

Summary. The systematics of the Green toad *Bufo viridis* Laurenti, 1768 adopted up to now is exclusively based on the morphometric characters. The results obtained in the present study show clearly its limits in critical situations like the systematic status of *B. brongersmai* Hoogmoed, 1972 and the island population of Corsica (INW Mediterranean). The approach used here associates morphometric and allozyme data. The use of the genetic tool as a complement of the morphometry brought results being able to revisit the perispecific systematics of the Green toad, Indeed, in spite of a limited sampling, preliminary results reveal a high genetic differentiation between the island population and the continental one. Consequently, it could involve a species complex rather than a single one.

Keywords : *Bufo viridis* ; systematics ; morphometry ; allozyme markers ; biological and phylogenetic concepts.

INTRODUCTION

Le Crapaud vert *Bufo viridis* Laurenti 1768 appartient à la famille des Bufonidés (classe des Batraciens). Sa répartition géographique mondiale (fig. 1) est très large. Elle englobe l'ensemble du continent européen, à l'exception de la France, de la péninsule ibérique et des îles britanniques; la limite septentrionale se situe au sud des pays scandinaves. Elle inclut également l'ensemble des grandes îles méditerranéennes, une large partie de l'Asie ainsi que l'Afrique du Nord depuis l'Égypte jusqu'au sud du Maroc.

Sa distribution géographique au Maroc (fig. 1) montre que l'espèce est très répandue, occupant divers types de milieux, depuis les plus basses altitudes des côtes atlantique et méditerranéenne jusqu'à des altitudes de haute montagne, dépassant par endroits 2500 m. Vers le sud, l'espèce atteint les régions arides du Sahara où elle se cantonne au niveau de certains points d'eau situés en plein désert. D'après Beaubrun (in Bons & Geniez, 1996), la localité d'El Argoub près de Dakhla constituerait la limite méridionale de son aire de distribution.

En 1972, Hoogmoed décrit un deuxième Crapaud vert très apparenté à *B. viridis* de par sa morphologie. Il s'agit de *Bufo brongersmai* Hoogmoed 1972 ou Crapaud de Brongersma. En effet, jusqu'en 1972, les spécimens de ce taxon étaient considérés comme de jeunes *B. viridis* (Pasteur & Bons, 1959). Depuis, plusieurs observations et travaux, effectués sur plusieurs caractères morphologiques,

semblent le différencier de *B. viridis* (fig. 3). Cependant, le critère diagnostique utilisé par Hoogmoed qui est celui du tubercule subarticulaire distal a été ensuite remis en cause (Benhachem, 1989)

L'aire de répartition du Crapaud de Brongersma, nettement plus réduite, semble être limitée au sud-ouest du Maroc (fig. 2). Néanmoins, des représentants présumés de ce taxon ont été observés dans des stations plus septentrionales notamment à Skhour Erhamna (De la Riva, 1992). Par ailleurs, Bons & Geniez (1996) signalent la présence en sympatrie de *B. viridis* et *B. brongersmai* dans plusieurs sites, en particulier sur la façade atlantique dans la zone comprise entre Essaouira et Tarfaya.

La présence en sympatrie de ces deux entités morphologiquement et à *fortiori* phylogénétiquement très proches pose le problème de l'origine de *B. brongersmai* et de son degré d'isolement reproductif par rapport à *B. viridis* (total ou partiel). D'autre part, la distribution géographique actuelle de *B. viridis* de part et d'autre du bassin méditerranéen et l'occupation des grandes îles méditerranéennes associée aux événements paléobiogéographiques majeurs qu'a connu la Méditerranée occidentale soulèvent plusieurs questions relatives notamment à l'histoire de colonisation de ces îles et au degré de différenciation morphologique et/ou génétique des populations insulaires par rapport au peuplement continental.

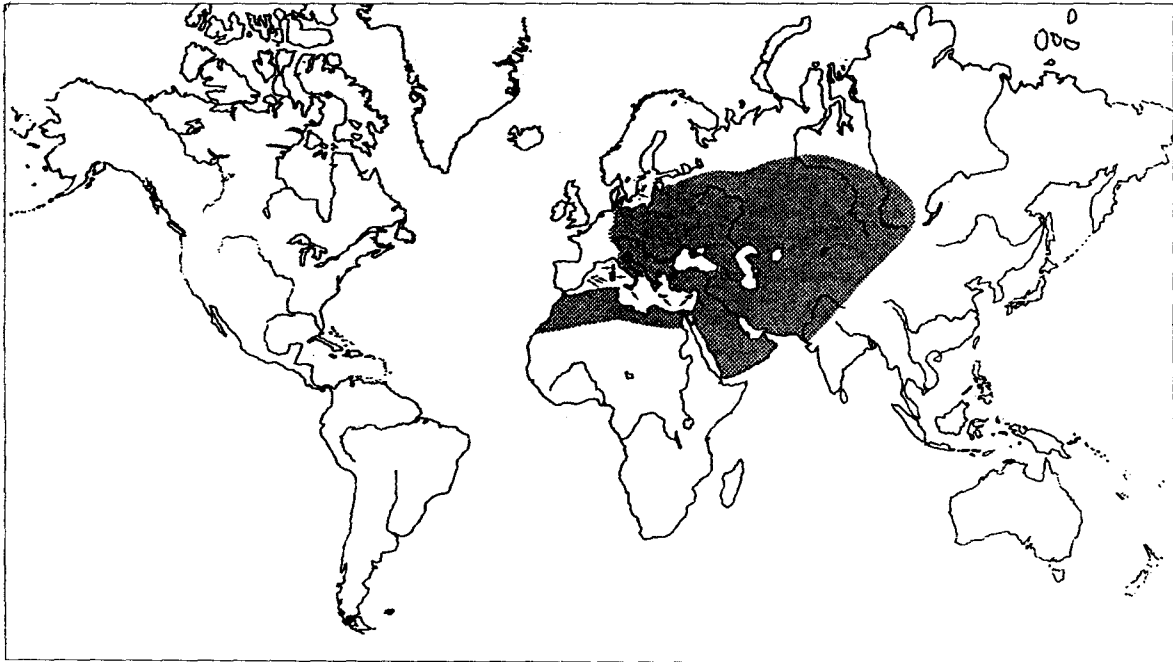


Figure 1. Aire de répartition mondiale du Crapaud vert *Bufo viridis* Laurenti, 1768, d'après Bruno et al. (1973; Arnold & Burton 1978, Engelmann & al. 1986).

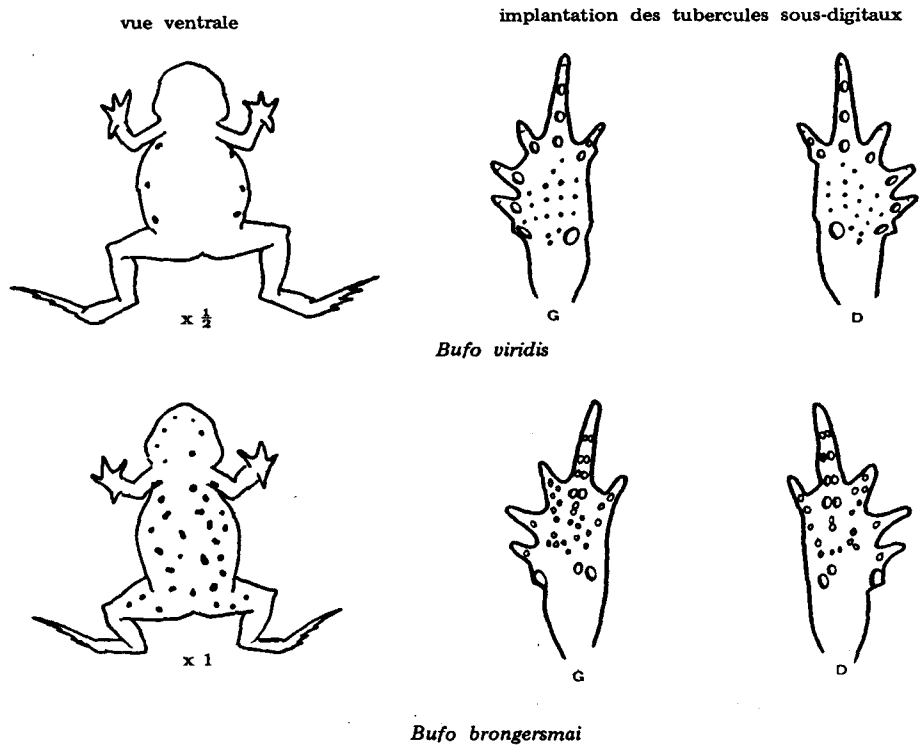


Figure 3. Principaux caractères morphologiques différenciant *Bufo viridis* de *Bufo brongersmai* : ventre blanc uni chez *B. viridis* et blanc tacheté chez *B. brongersmai*; tubercules sous digitaux du 4^{ème} doigt simple chez *B. viridis* et double chez *B. brongersmai*; taille de l'adulte de *B. viridis* fait le double du *B. brongersmai*.

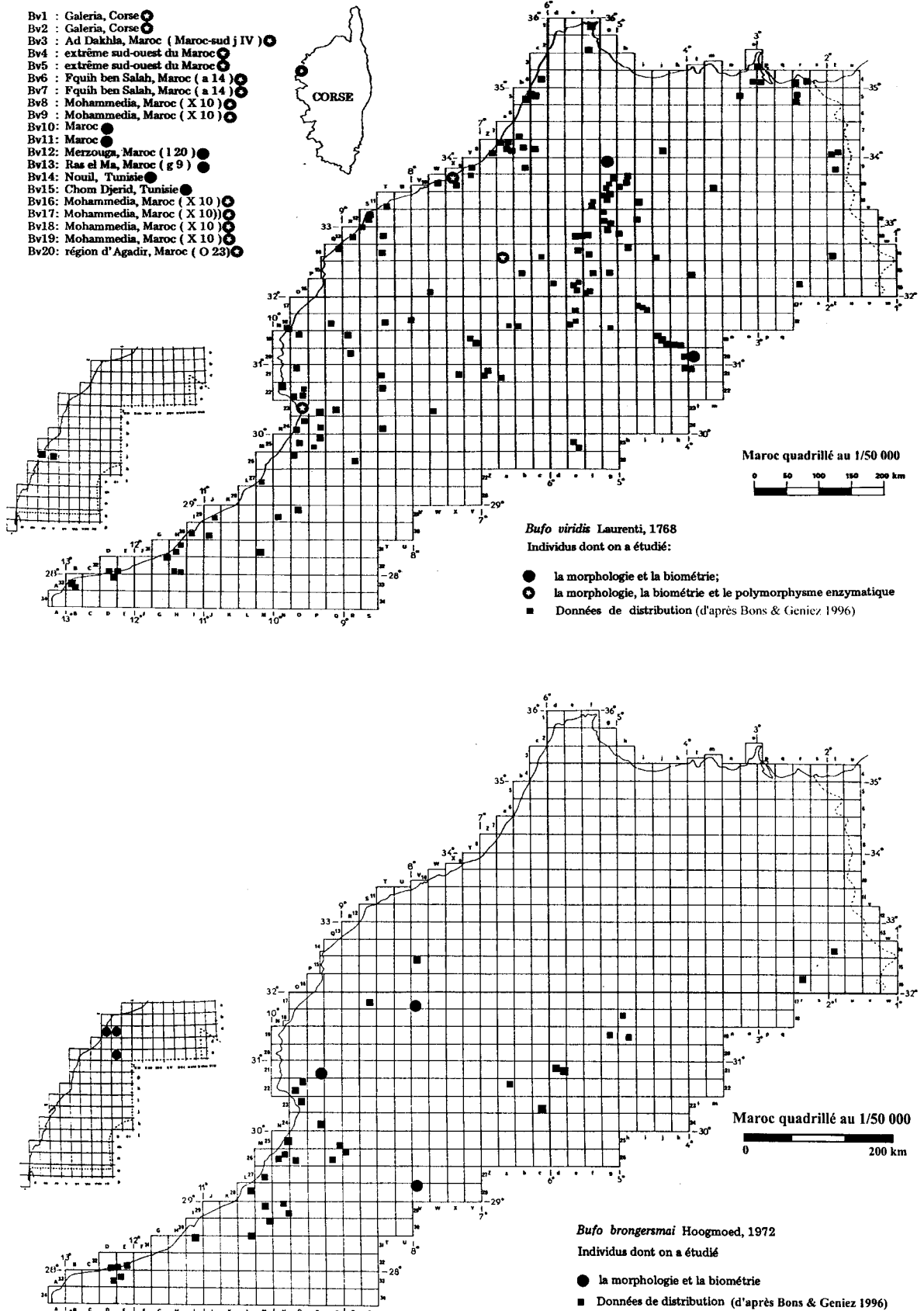


Figure 3. Distribution de *Bufo viridis* et de *Bufo brongersmai* au Maroc, selon Bons & Geniez (1996) et localisation des stations d'étude.

L'objet principal de ce travail est de définir une approche méthodologique intégrant des données de morphométrie et de génétique biochimique susceptible d'appréhender de manière efficace les questions posées ci-dessus. Cette approche est basée sur l'acquisition et l'analyse de données morphométriques et génétiques. A cet effet, des individus de *B. viridis* provenant du Maroc et de Corse ont été étudiés. L'analyse comporte l'examen des principaux caractères morphométriques et une étude de la variabilité génétique par électrophorèse des protéines enzymatiques à plusieurs locos, ce qui nous permettra d'évaluer et de comparer les niveaux de divergences morphologique et génétique entre une population continentale (le Maroc) et une population insulaire (la Corse).

MATERIEL ET METHODES

Morphométrie

L'analyse porte sur un échantillon de 18 individus appartenant au taxon *B. viridis* dont 16 proviennent du Maroc et 2 de Corse. Cinq spécimens représentant le taxon *B. brongersmai* issus du sud du Maroc ont été également

inclus. Les mesures effectuées intègrent deux types de variables :

– variables quantitatives : (1) longueur du corps allant du museau jusqu'au cloaque, et (2) densité des tâches pigmentaires dorsales le long de la ligne qui rattache l'épaule gauche à la patte droite;

– variables qualitatives : (1) aspect de la coloration dorsale et ventrale (tacheté réticulé, blanc uni ou blanc ponctué), (2) présence (simple ou double) de tubercules sous-articulaires au niveau du quatrième doigt; et (3) la présence ou absence de ligne vertébrale et du contraste du dos.

Polymorphisme enzymatique

Quatorze individus appartenant tous au taxon *B. viridis*, dont 12 du Maroc et 2 de Corse sont analysés ici par électrophorèse des protéines enzymatiques sur gel horizontal d'amidon au niveau de 15 locos représentant 11 systèmes enzymatiques. Sur chaque individu, quelques millilitres de sang ainsi que des fragments de foie, de cœur, de rein, de muscle et d'appareil génital sont prélevés, broyés et centrifugés. Les surnageants provenant des divers tissus sont ensuite récupérés et stockés à -70°C . Les électrophorèses sont réalisées selon le principe des colorations spécifiques en utilisant les conditions expérimentales et les tampons (de gels et de migrations) décrits in Pasteur *et al.* (1987) et résumés sommairement au tableau 1.

Tableau 1. Systèmes enzymatiques étudiés chez *Bufo viridis* et conditions expérimentales utilisées. ⁽¹⁾ : Enzyme Commission Number; ⁽²⁾ : les recettes de préparation sont données in Guillaume (1987) et Pasteur *et al.* (1987).

Système enzymatique	E.C.N. ⁽¹⁾	Nombre de locos	Tissus	Tampon ⁽²⁾
PGM Phosphoglucomutase	2.7.5.1.	1	Hémolysat	Tris Malate pH 6,9
α -PGDH Glycérophosphate déshydrogénase	1.1.1.44	1	Foie et Rein	Tris Citrate pH 8
IDH Isocitrate déshydrogénase	1.1.1.42.	2	Foie et Rein	Tris Citrate pH 6,7
MDH Malate déshydrogénase	1.1.1.37	2	Hémolysat	Tris Malate pH 6,9
LDH Lactico déshydrogénase	1.1.1.28.	2	Hémolysat	Tris HCl pH 8,5
AAT Aspartate amino transférase	2.6.1.1.	2	Foie et rein	Tris Citrate pH 8
EST Estérase	3.1.1.1.	1	Hémolysat	Tris HCl pH 8,5
SOD Superoxyde dismutase	1.15.1.1	1	Foie et Rein	Tris HCl pH 8,5
ME Malico-enzyme	1.1.1.40	1	Plasma	Tris HCl pH 8,5
MPI Mannose 6-phosphate isomérase	5.3.1.8	1	Hémolysat	Tris Citrate pH 8
GPI Glucose-phosphate isomérase	5.3.1.9.	1	Hémolysat	Tris HCl pH 8,5

RESULTATS

Le tableau II regroupe l'ensemble des résultats des mesures effectuées sur les individus représentant *B. viridis* et *B. brongersmai*. Il apparaît que le caractère "tubercules sous-articulaires" n'est pas constant à l'intérieur d'un même taxon (présence simultanée de tubercules simples et doubles) et ne constitue donc pas un bon caractère taxinomique. Par contre, la taille de l'adulte montre une

différence stable et mesurable : les individus appartenant au taxon *B. brongersmai* sont de plus petite taille. Le caractère "aspect du ventre" (plutôt uni chez *B. brongersmai*.

Alors qu'il est souvent ponctué chez *B. viridis* (fig. 2) vient au second plan et semble séparer entre les jeunes des deux taxons, chez qui la "taille" ne constitue pas un caractère discriminant. "L'absence de ligne vertébrale" chez *B. brongersmai* semble constituer également un caractère constant.

Globalement, l'analyse comparée des caractères morphométriques pris en compte dans le présent travail montre une plus grande variabilité de *B. viridis* par rapport à *B. brongersmai*. Néanmoins, chez *B. viridis*, les deux individus de Corse ne sont pas différents de ceux du Maroc.

La variabilité génétique étudiée ici par électrophorèse des protéines enzymatiques sur gels horizontaux d'amidon a permis de révéler le polymorphisme à 15 locos différents. Les résultats bruts sous forme de génotypes observés aux locos étudiés sont notés dans le tableau III. Les 15 locos analysés peuvent être scindés en deux catégories :

1. Des locos monomorphes représentés par un seul et même type d'allèles chez tous les individus analysés y compris les deux de Corse. Ces locos sont EST (fig. IV), GPI, ME, MDH₂ et AAT₂.

2. des locos polymorphes représentés chacun par deux allèles différents ou plus. Il s'agit de PGM (fig. IV), IDH₂,

SOD, MDH₁, LDH₁, LDH₂, IDH₁, α -GPDH et AAT₁. En fait, tous ces locos sont représentés par deux allèles à l'exception de MPI (fig. IV) où l'on note l'expression de trois allèles. Il est important également de noter qu'au sein de cette catégorie, deux sous-groupes différents de locos sont mis en évidence :

a – au premier, un seul type d'allèles s'exprime dans l'échantillon marocain contre un second type présent exclusivement chez les deux individus de Corse. Les locos possédant ce type de polymorphisme sont : α -GPDH, LDH₁, LDH₂, MDH₁ et SOD (fig. 4). Ce sont en fait des locos monomorphes à l'intérieur de chacun des deux échantillons car on remarque l'absence totale d'individu(s) hétérozygote(s).

b – des locos polymorphes à l'intérieur de l'échantillon marocain avec deux ou trois allèles : AAT₁, IDH₁, PGM et MPI. D'autre part, l'analyse des génotypes à ces mêmes locos montre la présence conjointe d'individus homozygotes et hétérozygotes dans l'échantillon marocain. Par contre, les deux individus de Corse sont homozygotes à tous les locos analysés et ne possèdent d'ailleurs qu'un seul type d'allèles par locos.

L'analyse des fréquences alléliques (tableau IV) déduites directement à partir des effectifs génotypiques montre clairement que les échantillons de Corse et du Maroc possèdent des allèles fixés différents (allèles alternatifs) à plusieurs locos : α -GPDH, LDH₁, LDH₂, MDH₁ et SOD. On note également la présence spécifique de certains allèles plus ou moins rares dans l'échantillon marocain. Il s'agit de AAT₁-70, IDH₁-108, PGM-106, MPI-96 et MPI-112. Enfin, on note qu'en Corse, il existe un allèle par locos, alors que dans l'échantillon marocain 20 allèles différents sont recensés sur l'ensemble des 15 locos testés.

DISCUSSION

La réduction de la diversité génétique dans la population de Corse nous paraît tout à fait conforme aux spécificités classiques liées au syndrome d'insularité (Blondel 1995). L'ensemble des résultats obtenus révèle un haut degré de différenciation génétique de la population insulaire de Corse par rapport à son homologue continental du Maroc.

Nous avons d'ailleurs tenté d'estimer la distance génétique entre l'échantillon marocain et celui de Corse en utilisant l'indice de Nei (1978) adapté aux échantillons de petite obtenue (voisine de 0,5 unité), aussi biaisée qu'elle soit, donne une indication précieuse sur le degré de divergence génétique entre ces deux populations, ainsi que sur la période de leur isolement géographique.

Conformément au concept de l'horloge moléculaire (Sarich *et al.* 1973, Sarich 1977), cet événement doit remonter à plusieurs millions d'années. A titre indicatif, d'après ce concept, une unité de distance correspond à une valeur de 18 à 20 Ma. sur l'échelle des temps géologiques. Des travaux antérieurs menés sur des amphibiens du genre *Discoglossus* (Busack, 1989) et sur des Lacertidés

(Guillaume 1982, Sqalli 1991) évoquent clairement le rôle de la crise de salinité messinienne et l'assèchement plus ou moins total de la Méditerranée occidentale auquel elle a conduit (Cita 1980), dans la mise en place des peuplements herpétologiques de part et d'autre du bassin méditerranéen et la colonisation des îles initialement inaccessibles à ces organismes purement terrestres.

Des études ultérieures utilisant un échantillonnage plus adéquat, étayées par des données paléontologiques et paléobiogéographiques de la Méditerranée occidentale, permettront d'élucider de manière plus précise cette phase et de se prononcer plus clairement sur le statut taxinomique de la population insulaire. Si une telle hypothèse de mise en place est confirmée, elle permettra vraisemblablement d'attribuer à la population corse un nouveau statut taxinomique de rang spécifique et ce conformément au concept évolutif de l'espèce biologique (Mayr 1963, 1974, Wiley 1978, Cracraft 1983, Smith 1990).

Selon ce concept, des populations allopatriques nettement différenciées et complètement isolées sur le plan des échanges génétiques (rupture totale du flux génique) sont élevées aux rangs d'espèces car même si elles ont maintenu une certaine identité morphologique permettant de les rapprocher, elles ont développé chacune ses propres tendances et caractères évolutifs sous l'emprise de la sélection et dérive, ou encore sous l'effet de la mutation et de l'adaptation.

Ainsi, Frost & Hillis (1990) ont attribué à deux sous-espèces génétiquement différenciées du genre *Bufo* (*B. microscaphus microscaphus* et *B. m. californicus*) le statut d'espèces distinctes, respectivement *B. microscaphus* et *B. californicus* dans deux échantillons de *Bufo viridis*. Concernant *Bufo brongersmai*, les variables morphométriques considérées dans la présente étude révèlent une différenciation plus ou moins nette de ce taxon par rapport à *B. viridis*.

Cependant, elles ne permettent pas de diagnostiquer aisément entre les deux taxons et particulièrement lorsqu'il s'agit de jeunes spécimens. Aussi, il nous semble indispensable d'utiliser l'outil moléculaire enzymatique afin d'éclaircir la situation et de pouvoir vérifier de manière irréfutable l'existence ou l'absence d'isolement reproducteur entre ces deux entités. L'estimation du degré de divergence génétique aidera également à retracer la phylogénèse et reconstituer les étapes clés de l'histoire de mise en place du groupe correspondant à ces deux taxons.

Il est intéressant de vérifier l'hypothèse, qui serait celle d'une spéciation sympatrique de *Bufo brongersmai*, processus fréquent chez les animaux peu mobiles comme ceux du groupe des amphibiens (Gill 1978). Dans le cas où cette hypothèse est confirmée, il serait très utile d'élucider les caractères adaptatifs propres au Crapaud de Brongersma ainsi que les facteurs écologiques du milieu qui lui ont permis de se différencier au sein même de l'aire de répartition de *Bufo viridis*

Tableau 2. Mesures morphométriques de *Bufo viridis* et de *Bufo bongersmai* en provenance du Maroc, de Tunisie et de Corse.

ECHANTILLONS			CARACTERES								
Espèce	Individu	Provenance	Sexe	Age	Longueur totale (cm)	Aspect Dorsal	Contraste	Ligne Vertébrale	% Pigment.	Aspect Ventral	Tubercules sous-articulaires (4ème doigt)
FRANCE											
<i>Bufo viridis</i>	BV 1	(Corse)-Galéria	♂	ad.	6,5	tacheté fragmenté	+	+	0,60	blanc avec des points noirs	simple
	BV 2		♀	ad.	8,0	tacheté (petites taches)	+	+	0,64	blanc uni	"
MAROC											
<i>Bufo viridis</i>	BV 8	Mohammedia	♀	ad.	8,0	tacheté	++	⊥	0,60	blanc uni	simple
	BV 9		♂	ad.	8,0	tacheté (foncé) clairsemé	-	++	-	"	"
	BV 16		♀	ad.	7,0	tacheté à réticulé	++	-	0,68	blanc marbré	double
	BV 17		♂	ad.	6,3	tacheté	+	++	0,63	blanc uni	simple
	BV 18		♂	ad.	7,3	tacheté à réticulé	-	-	0,62	"	double à gauche
	BV 19		♂	ad.	7,8	tacheté	-	++	0,69	"	simple
	BV 6		Fquih ben Salah	♀	ad.	6,0	réticulé	++	⊥	0,70	"
	BV 7	♂		ad.	5,8	tacheté	+	++	0,56	"	"
	BV 20	Agadir	♂	ad.	4,5	tacheté	+	+	0,72	"	"
	BV 4	Extrême S.W.	♀	juv.	4,3	tacheté (petites taches)	-	++	0,40	blanc uni (pts. noirs gulaires)	simple
BV 5	♂		ad.	7,0	tacheté (très clair)	-	⊥	-	blanc uni	simple	
BV 3	(Dakhla)	♂	?	5,5	"	-	+	-	"	"	
<i>Bufo viridis</i>	BV 10	origine indéterminée	♀	sub.	7,0	tacheté	+	+	0,80	"	"
	BV 11		♀	ad.	8,0	tacheté (clairsemé)	+	-	0,66	"	"
	BV 12	Merzouga	?	juv.	3,5	tacheté (petites clairsemées)	-	-	0,55	"	"
	BV 13	Ras-el-Ma	?	juv.	3,5	tacheté (petites taches)	-	-	0,25	"	"
	TUNISIE										
BV 14	Nouil	?	sub.	6,0	tacheté	+	+	0,63	blanc uni	simple	
BV 15	Chom-Djerid	?	juv.	3,0	tacheté	-	-	0,46	"	"	
MAROC											
<i>Bufo bongersmai</i>	BBr 5	14 km Nord de Marrakech.	♀	ad.	3,8	tacheté	+	-	0,44	blanc avec des points noirs	double
	BBr 4	Maison forest. d'Aïn-Asmama	♂	ad.	4,0	réticulé	+	-	0,50	"	"
	BBr 3		♀	ad.	4,0	tacheté	+	-	0,52	"	"
	BBr 2		♂	ad.	4,2	tacheté	+	-	0,64	"	"
	BBr 1	S. source Tata	♀	ad.	3,8	tacheté	-	-	0,40	"	simple

Tableau III. Effectifs génotypiques à 15 locos enzymatiques dans deux échantillons de *Bufo viridis*

Locos	génotypes	Maroc	Corse
AAT ₁	70/100	2	0
	100/100	10	2
αGPDH	100/100	12	0
	110/110	0	2
IDH ₁	100/100	11	0
	108/108	0	2
LDH ₁	100/100	1	0
	95/95	0	2
LDH ₂	100/100	12	0
	80/80	0	2
MDH ₁	100/100	12	0
	90/90	0	2
SOD	100/100	12	0
	94/94	0	2
PGM	100/100	8	2
	106/106	1	0
IDH ₂	100/106	3	0
	100/100	11	2
MPI	100/110	1	0
	100/100	8	2
AAT ₂	112/112	1	0
	100/112	2	0
MDH ₂	96/112	1	0
	100/100	12	2
ME	100/100	12	2
	100/100	12	2
GPI	100/100	12	2
	100/100	12	2
EST	100/100	12	2

CONCLUSION

Au vu des résultats obtenus dans la présente étude, l'hypothèse de remettre en question le statut taxinomique de *B. viridis* nous semble justifiée. Les méthodes d'analyse utilisées dans ce travail préliminaire constituent une approche cohérente capable de conduire à une réponse satisfaisante à la problématique posée par la systématique périspécifique de *B. viridis*. Pour cela, un échantillonnage approprié et conséquent sera nécessaire et devra englober plusieurs îles méditerranéennes et régions continentales d'Afrique du Nord, d'Europe et d'Asie.

Une approche analogue aidera également à lever le doute qui subsiste entre *B. viridis* et *B. brongersmai*. L'obtention d'un profil électrophorétique montrant la présence d'allèles alternatifs à un locus donné (similaire à celui obtenu au locus SOD par exemple) entre les représentants de deux échantillons sympatriques de ces deux taxons constituerait un critère diagnostique irréfutable attestant d'un isolement reproductif total, qui demeure le critère fondamental du concept de l'espèce biologique (Mayr 1963, 1986)

Tableau IV. Fréquences alléliques à 15 locos enzymatiques.

Locos	génotypes	Maroc	Corse
AAT ₁	70	.08	0
	100	.92	1
αGPDH	100	1	0
	110	0	1
IDH ₁	100	.96	0
	108	.04	1
LDH ₁	95	0	0
	100	1	1
LDH ₂	80	0	0
	100	1	1
MDH ₁	90	0	1
	100	1	0
SOD	94	0	1
	100	1	0
PGM	100	.79	1
	106	.21	0
IDH ₂	100	1	0
	110	0	1
MPI	96	.04	0
	100	.78	1
AAT ₂	112	.18	0
	96	.04	0
MDH ₂	100	1	1
	100	1	1
ME	100	1	1
	100	1	1
GPI	100	1	1
	100	1	1
EST	100	1	1

utilisé et approuvé. Si par contre, des hétérozygotes sont décelés, ils seraient synonymes d'hybrides et par conséquent ils constitueraient le témoignage incontestable de brassage génétique et d'absence de barrière étanche à la reproduction. Ce dernier cas de figure obligera ces recherches à pousser de manière très fine dans la répartition écopécologique afin de délimiter très nettement la (ou les) zone d'introgession. Ce dernier travail nous permettra d'estimer plus correctement le taux d'hybridation et surtout la dispersion de ces hybrides à partir de la zone d'introgession. Ainsi, on pourra discuter avec argumentation cette variation biochimique ou moléculaire éventuellement observée et lui attribuer un caractère systématique (notion de sous espèce ou race géographique) ou simplement un caractère lié au polymorphisme et maintenu par les facteurs du milieu ou autres.

En définitive, même si les résultats préliminaires obtenus dans la présente étude restent insuffisants, ils constituent néanmoins les prémices d'une systématique vraisemblablement plus complexe et plus intéressante. Sa révision mérite d'être affinée par l'utilisation des techniques de génétique biochimique et moléculaire.

Remerciements

Nous tenons à remercier l'Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier (l'ISEM, USTL) et plus particulièrement le laboratoire de Génétique des populations où les manipulations d'électrophorèse ont

été effectuées. Nous remercions aussi l'EPHE de Montpellier et plus particulièrement Claude Guillaume et Philippe Geniez, soucieux de cette problématique.

Références

- Arnold E.N. & Burton J. A. 1978. Tous les reptiles et amphibiens d'Europe en couleur. 271 p. Elsevier.
- Benhachem L. M. 1989. Taxinomie et caractérisation de deux espèces d'amphibiens anoures : *Rana ridibunda* Pallas, 1771 et *Bufo viridis* Laurenti, 1768 au Maroc. *Thèse de 3^{ème} cycle, Fac. Sci., Rabat*, 220 pp.
- Blondel J. 1995. Biogéographie. Approche écologique et évolutive. *Masson eds. coll. écologie* (n° 27), 297 pp.
- Bons J. & Geniez P. 1996. Amphibiens et reptiles du Maroc. Atlas biogéographique. *Associacion herpetologica espanola (Barcelona)*, 319 pp.
- Bruno *et al.* Busack S.D. 1986. Biochemical and morphological differentiation in Spanish and Moroccan populations of *Discoglossus* and the description of a new species from Southern Spain (*Amphibia, Anura, Discoglossidae*). *Ann. Carneige Museum*, **55** (3) : 41-61.
- Cita M. B. 1980. Quand la Méditerranée était asséchée. *La Recherche*, **11** (107) : 26-35.
- CRACRAFT J. 1983. Species concept and speciation analysis. In Johnston R.F. (ed.), *Current Ornithology* **1**: 159-187, Plenum Press, New York.
- De Lariva I. 1992. Geographic distribution of *Bufo brongersmai*. *Herpetol. Rev.*, **23** (1) : 24.
- Engelmann *et al.* 1986. Lurche und kriechtiere Europas. 424 p., Enke Stuttgart.
- Frost D. R. & Hillis D. M. 1990. Species in concept and practice : herpetological applications. *Hepetologica*, **46** (1) : 87-104.
- GILL D.E. 1978. The metapopulation ecology of the red-spotted newt, *Notophthalmus viridescens* (Rafinesque). *Ecological Monographs* **48**: 145-166.
- Guillaume G.P. & Lanza B. 1982. Comparaison électrophorétique de quelques espèces de Lacertidés méditerranéens, genera *Podarcis* et *Archaeolacerta*. *Amphibia-Reptilia*, **4** : 361-375.
- Hoogmoed M. S. 1972. On a new species of toad of Southern Morocco. *Zoologische Mededelingen*, **47** (4) : 49-64.
- MAYR E. 1963. *Animal species and evolution*. Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass., 325p.
- MAYR E. 1974. *Populations, espèces et évolution*. Hermann, Paris, 496p.
- Mayr E. 1986. La systématique évolutionniste et les quatre étapes du processus de classification. In Tassy (coord.) l'ordre et la diversité du vivant : 143-160. *Fond. Diderot et Fayard eds., Paris*, 290 pp.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from small number of individuals. *Genetics*, **89** : 583-590.
- Pasteur G. & Bons J., 1959. Les batraciens du Maroc. – Trav. Inst. Sci. Chérifien, sér. Zool., **17** : 137-166.
- Pasteur N., Pasteur G., Bonhomme F., Catalan J. & Britton-Davidian J. 1987. Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines. Lavoisier TEC & DOC eds., 217 pp.
- Sarich V. M., Maxon L. & Wilson A. C. 1973. Relation between immunological and electrophoretic estimates of genetic distance. *Manuscript of a paper presented at the annual meeting of the study of evolution at Houston, Texas*.
- Sarich V. M. 1977. Rates, sample size and the neutrality hypothesis for electrophoresis in evolutionary studies. *Nature*, **265** : 24-28.
- Smith H. M. 1990. The universal species concept. *Herpetologica*, **46** (1) : 122-124.
- Sqalli H. H. 1991. Systématique et biogéographie évolutive du complexe *Acanthodactylus erythrurus* (*Reptilia, Lacertidae*). *Thèse de l'Université d'Aix-Marseille*, 191 pp.
- Wiley E. O. 1978. The evolutionary species concept reconsidered. *Syst. Zool.*, **27** : 17-26