

2010

**Effet de l'insularité sur la génétique des populations
de crustacés amphipodes de la zone intertidale marine :**
Le cas des Îles-de-la-Madeleine

Adriana RADULOVICI, France DUFRESNE, Guglielmo TITA

Effet de l'insularité sur la génétique des populations de crustacés amphipodes de la zone intertidale marine : Le cas des Îles-de-la-Madeleine

Adriana RADULOVICI¹, France DUFRESNE¹, Guglielmo TITA²

¹ Département de Biologie
Université du Québec à Rimouski (UQAR)
300, allée des Ursulines, Rimouski (Québec) G5L 3A1, Canada

² Centre de recherche sur les milieux insulaires et maritimes (CERMIM)
Université du Québec à Rimouski (UQAR)
37, ch. Central, C. P. 2280, Havre-aux-Maisons, Îles-de-la-Madeleine (Québec) G4T 5P4, Canada
Courriel : cermim@uqar.qc.ca

Rapport présenté au ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs (MDDEP)
Janvier 2010

ISBN 978-2-9810817-1-1 (PDF)
Dépôt légal – Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2010
Dépôt légal – Bibliothèque et Archives Canada, 2010

Ce document doit être cité comme suit :

Radulovici A., Dufresne F. et Tita G. (2010). *Effet de l'insularité sur la génétique des populations de crustacés amphipodes de la zone intertidale marine : Le cas des Îles-de-la-Madeleine*. Centre de recherche sur les milieux insulaires et maritimes (CERMIM), Îles-de-la-Madeleine (Québec), Rapport de recherche présenté au ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec (MDDEP), ii + 11 p.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES.....	ii
INTRODUCTION	1
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	2
2.1 Échantillonnage.....	2
2.2 Extraction d'ADN, amplification, séquençage	2
2.3 Analyse des données	3
3. RÉSULTATS.....	4
3.1 Haplotypes COI.....	4
3.2 Structure des populations.....	5
4. DISCUSSION.....	10
Remerciements	11
Références citées	11

INTRODUCTION

Les milieux insulaires offrent plusieurs avantages dans les études de biologie évolutive, notamment dans le cas d'îles situées à une distance relativement importante des continents. En effet, un certain nombre d'espèces sédentaires qui les habitent parcourent des chemins évolutifs différents, comparativement aux populations d'origine situées sur les continents (Drake *et al.*, 2002). L'étude de ces populations peut donc aider la compréhension des mécanismes évolutifs des espèces, ainsi que des écosystèmes insulaires.

En milieu marin, les espèces de la zone intertidale sont particulièrement propices à ce type d'études, car la mer ouverte représente une barrière aux croisements reproductifs entre les populations continentales et celles d'îles relativement distantes. Toutefois, la présence de stades larvaires pélagiques chez certaines espèces intertidales peut permettre de surmonter la barrière océanique et donner lieu à un certain flux génique entre les populations (Sa-Pinto *et al.*, 2008).

Par contre, dans le cas d'espèces n'ayant pas de stades larvaires pélagiques, comme chez les crustacés amphipodes, ce type d'échange est limité, ce qui les rend intéressantes pour les études portant sur la biodiversité et la biogéographie. Cependant, certains auteurs ont rapporté des cas de migration d'organismes sur des corps flottants à la dérive, tels du bois ou des algues (Thiel & Gutow, 2005). Le succès de migration d'organismes à la dérive dépendrait de plusieurs facteurs rendant relativement difficile leur survie, par exemple : la taille du corps flottant, la distance à parcourir, les courants marins et le temps de dérive.

L'estuaire et le golfe du Saint-Laurent représentent une région connue pour une complexité physiographique, océanographique, bathymétrique et biogéographique importante. Brunel *et al.* (1998) ont établi une classification en vingt zones biogéographiques. L'archipel des Îles-de-la-Madeleine est une de ces zones et se situe au milieu du Golfe à une distance appréciable du continent. Pour étudier l'effet de l'insularité sur la différenciation génétique d'espèces d'amphipodes intertidaux de la région laurentienne, deux espèces avec une capacité de dispersion potentiellement différente ont été sélectionnées.

La puce de mer (*Platorchestia platensis* Krøyer 1845) est une espèce semi-terrestre qui vit dans des algues séchées sur les plages, tandis que le gammare de rivage (*Gammarus oceanicus* Segerstråle, 1947) est une espèce intertidale qui se déplace activement dans la colonne d'eau.

Cette étude vise à mieux comprendre les patrons évolutifs et la phylogéographie des deux espèces de crustacés amphipodes, *Platorchestia platensis* et *Gammarus oceanicus* à l'échelle de la région laurentienne. Plus spécifiquement, les objectifs de cette étude sont : (i) vérifier si les populations des Îles-de-la-Madeleine de ces deux espèces d'amphipodes sont génétiquement distinctes des populations présentes dans le littoral du périmètre du Golfe du Saint-Laurent; (ii) le cas échéant, identifier les

possibles points d'origine des populations madelinienne par le niveau d'affinité génétique avec les populations continentales.

L'importance de ce type d'étude réside non seulement dans une meilleure compréhension de la biogéographie des deux espèces d'amphipodes, mais aussi dans la génération de données pouvant motiver certaines stratégies de conservation des habitats. Le présent rapport est une synthèse des résultats qui seront publiés dans des journaux spécialisés.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Échantillonnage

Cent soixante-douze spécimens de *G. oceanicus* et 121 spécimens de *P. platensis* ont été échantillonnés en 2007-2008 à des stations situées dans le Golfe du Saint-Laurent, ainsi que sur la côte de l'Atlantique. Ces stations étaient réparties entre le milieu insulaire (Îles-de-la-Madeleine) et continental (Québec, Nouveau-Brunswick, Nouvelle-Ecosse, Île-du-Prince-Édouard – cette dernière étant considérée « continentale » pour sa proximité du continent) (Figure 1). Les stations échantillonnées ont été regroupées en quinze régions différentes (Tableau 1 et 2).

Les amphipodes ont été récoltés dans la zone intertidale à marée basse et préservés dans une solution d'éthanol à 100 %. L'identification morphologique a suivi la clé de Bousfield (1973). Les détails concernant la taxonomie et l'échantillonnage ont été mis en caractères gras et seront disponible après la publication de ces données dans des journaux spécialisés.

2.2 Extraction d'ADN, amplification, séquençage

Le gène du cytochrome oxydase 1 (COI) a été séquencé pour détecter la structure génétique des populations. Les opérations de laboratoire se sont déroulées à l'Université du Guelph (Ontario)- Canadian Center for DNA Barcoding. L'ADN génomique a été extrait à partir d'une partie minuscule d'une patte pour chaque amphipode à l'aide d'un protocole automatique. L'amplification du COI a été réalisée par Polymerase Chain Reaction (PCR) avec deux paires d'amorces alternatives : LCO1490/ HCO2198 (Folmer *et al.*, 1984), CrustDF1/ CrustDR1 (D. Steinke, communication personnelle). Le mélange de PCR d'un volume total de 12.5 µL, contenait 2 µL H₂O, 6.25 µL 10 % tréhalose, 1.25 µL 10x tampon PCR, 0.625 µL MgCl₂ (50 mM), 0.0625 µL dNTPs (10 mM), 0.06 µL Platinum *Taq* polymérase (Invitrogen), 0.125 µL de chaque amorce (10 µM) et 2 µL AND génomique. Le programme PCR consistait en : 1 min à 94 °C, cinq cycles à 94 °C pour 40 sec, 45 °C pour 40 sec et 72 °C pour 1 min, suivi par 35 cycles à 94 °C pour 40 sec, 51 °C pour 40 sec et 72 °C pour 1 min et une étape finale à 72 °C pour 5 min. Les produits

PCR ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose 2 %, préfabriqué avec 96-puits (Invitrogen E-Gel 96 system) et visualisés à la lumière ultraviolette. Le séquençage a été réalisé dans les deux directions avec BigDye version 3.1 sur un ABI 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems), en utilisant les mêmes amorces que pour le PCR. Les séquences ont été déposées dans la base de données de Barcode of Life Data Systems (BOLD) (www.barcodinglife.org) et seront rendues publiques lorsque les résultats de l'étude seront publiés.

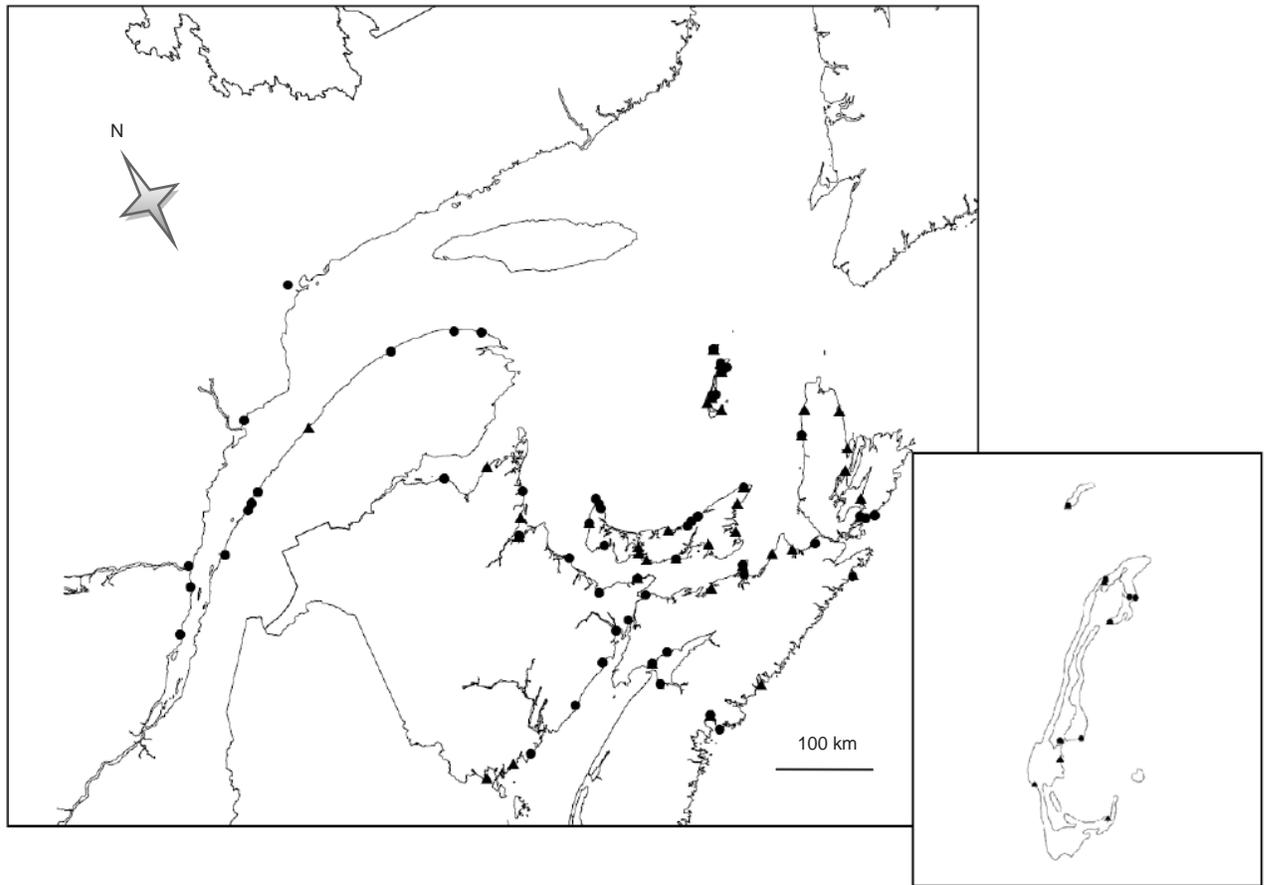


Figure 1. Stations échantillonnées dans le Golfe du Saint-Laurent et vue plus détaillée sur l'archipel des Îles-de-la-Madeleine. Symboles utilisés : cercle pour *G. oceanicus*, triangle pour *P. platensis*.

2.3 Analyse des données

Les séquences d'ADN ont été alignées avec le logiciel SEQSCAPE 2.1.1 (Applied Biosystems) et vérifiées à la main pour les ambiguïtés. Le modèle Kimura 2-paramètre (Kimura 1980) pour les substitutions des nucléotides a été utilisé en BOLD pour calculer les distances génétiques entre les individus de chacune des deux espèces. Le même modèle implémenté en MEGA 4 (Tamura *et al.*, 2007) a

servi pour construire un arbre phylogénétique (neighbor-joining, 500 répliques *bootstrap*) qui montre les relations à l'intérieur de chaque espèce (données pas présentées ici). Le logiciel Arlequin 3.11 (Excoffier *et al.*, 2005) a été utilisé pour estimer la diversité des haplotypes et des nucléotides dans chaque région, les valeurs FST entre les populations et le niveau de divergence génétique entre régions. D'après ces résultats, les régions ont été divisées en groupes biogéographiques pour une analyse hiérarchique de la variance moléculaire (AMOVA) en Arlequin (voir Tableau 1 et 2 pour le groupement des populations). Un réseau « minimum spanning » pour établir la relation phylogénétique entre les haplotypes a été effectué avec le logiciel TCS (Clement *et al.*, 2000).

3. RÉSULTATS

3.1 Haplotypes COI

La région COI amplifiée avec les amorces universelles était généralement de 658 paires de bases (bp). Parmi nos échantillons, seulement trois séquences par espèce avaient une taille plus petite (611-655 bp) due à la qualité moyenne des séquences à la proximité des amorces et non par des délétions à l'intérieur des séquences. Étant un gène qui code pour des protéines importantes dans la chaîne respiratoire, COI ne peut pas contenir des insertions ou délétions, tel cas indiquant l'amplification des pseudogènes (gènes inactifs) durant le PCR. Pour *G. oceanicus*, le fragment d'ADN de 658 bp était composé de 603 sites conservés et 55 variables dont 35 avec information parcimonieuse. Pour *P. platensis*, le fragment incluait 635 sites conservés, 23 sites variables et seulement 4 sites informatifs. Les mutations dans les sites variables étaient composées de deux types des substitutions : entre nucléotides de même groupe (A-G et C-T) et de groupes différents (A/G-C/T). La distance génétique à l'intérieur de l'espèce varie entre 0-0.93 % (moyen 0.20 %) pour *P. platensis* et entre 0-1.86 % (moyen 0.65 %) pour *G. oceanicus*.

L'analyse de TCS a détecté un total de 52 haplotypes différents pour *G. oceanicus* et 11 haplotypes pour *P. platensis*. Pour chaque espèce il y avait des haplotypes uniques (trouvés seulement dans un spécimen) : sept haplotypes pour *P. platensis* (dont deux trouvés aux Îles-de-la-Madeleine) et 29 haplotypes pour *G. oceanicus* (dont deux exclusivement aux Îles-de-la-Madeleine). La majorité des puces de mer (93.38 %) se regroupent en trois haplotypes très fréquents, tandis que les gammares ne présentent pas le même patron. Ils sont plus diversifiés, mais 37 d'entre eux partagent le même haplotype et ce dernier est présent seulement aux Îles-de-la-Madeleine. À noter que deux autres haplotypes de *G. oceanicus* sont présents, quoique très peu fréquents, mais ne se retrouvent qu'aux Îles-de-la-Madeleine. Un quatrième haplotype se retrouve aux Îles mais aussi dans d'autres régions du Golfe.

3.2 Structure des populations

Les arbres phylogénétiques pour les deux espèces ont montré une très faible résolution des individus en groupes monophylétiques, c'est pourquoi les figures de ces arbres ne sont pas incluses dans le rapport. Les valeurs F_{ST} entre paires de régions démontrent une certaine structure génétique pour les populations des *G. oceanicus* (Tableau 3), mais une faible différence entre les populations de *P. platensis* (Tableau 4) qu'ils soient à l'intérieur du Golfe ou sur la côte Atlantique, sur le continent ou sur des îles.

L'analyse AMOVA a également démontré des différences entre les deux espèces. Bien que la majeure partie de la variation génétique soit présente à l'intérieur des régions, dans les deux cas pour *G. oceanicus*, il y a une différence significative entre les groupes géographiques (Tableau 5), beaucoup plus prononcé que chez *P. platensis* (Tableau 6).

Tableau 1. Détails sur les spécimens de *G. oceanicus* utilisés dans cette étude.

Gr. pour AMOVA	Région	Localités échantillonnées	Nb de spécimens	Nb de haplotypes	Diversité génique
1	Îles-de-la-Madeleine	Île Brion (réserve écologique)	37	12	0.00047
		Cap-aux-Meules			
		Grande-Entrée			
		Grosse-Île			
2	Île-du-Prince-Édouard (ouest)	Havre-Aubert	8	5	0.00434
		Tignish Shore			
		North Cape			
		Miminegash			
2	Île-du-Prince-Édouard (est)	Brae Harbour	13	6	0.00281
		Tracadie Harbour			
		Savage Harbour			
		North Lake Harbour			
		Point Deroche			
3	Côte-Nord	Argyle Shore	4	2	0.04179
		Baie-Comeau			
4	Cap-Breton 1	Sept-Îles	7	4	0.00304
		Chéticamp			
5	Cap-Breton 2	Linwood	10	6	0.00375
		Tor Bay			
		Saint Peter			
		Ardoise			
5	Nouvelle-Écosse (côte Atlantique)	Point Michaud	4	3	0.00228
		Peggy's Cove			
6	Gaspésie	Boutilier's Point	13	10	0.01142
		Gaspé			
		Percé			
		Grand Étang			
		Rivière-au-Renard			
6	Baie des Chaleurs	Mont-Louis	3	2	0.00486
		Belledune			
7	Minas Basin	Parrsboro	13	11	0.00830
		Five Islands			
		Kingsport			
7	Fundy	Alma	15	11	0.01038
		St. Martins			
		Chance Harbour			
		Hopewell Rocks			
		Wood Point			
8	Estuaire-sud	Trois-Pistoles	14	6	0.00119
		Rimouski			
		Sainte-Luce			
		Rocher-Blanc			
8	Estuaire-nord	Tadoussac	11	8	0.00166
		Baie-des-Rochers			
		Saint-Irénée			
4	Miramichi	Point aux Carr	4	3	0.00431
		Tracadie			
4	Pictou	Pictou	6	5	0.00466
		Caribou			
4	Northumberland	Shediac	10	5	0.00236
		Murray Corner			
		Seagrove			
		Cap Lumière			

Tableau 2. Détails sur les spécimens de *P. platensis* utilisés dans cette étude

Gr. pour AMOVA	Région	Localités échantillonnées	Nb de spécimens	Nb de haplotypes	Diversité génique
1	Îles-de-la-Madeleine	Île Brion (réserve écologique)	26	5	0.00252
		Cap-aux-Meules			
		Grande-Entrée			
		Grosse-Île			
		Havre-aux-Maisons			
		Havre-Aubert			
Île d'Entrée					
2	Île-du-Prince-Édouard	Summerside	20	3	0.00274
		Webber Point			
		Miminegash			
		North Lake Harbour			
		Argyle Shore			
		North Rustico			
		Orwell Cove			
		Chelton Beach			
		Souris Beach			
		Panmure Island			
3	Nouvelle-Ecosse (côte Atlantique)	Badeck	16	5	0.00238
		Jersey Cove			
		Martinique Beach			
		Ingonish Beach			
		Boutilier's Point			
4	Gaspésie	Gaspé	14	4	0.01441
		Percé			
		Bonaventure			
		Grande-Anse			
		Neguac			
		Sainte-Félicité			
3	Fundy	St Andrews	13	5	0.00721
		Seeleys Cove			
		Parrsboro			
		New River			
		Frenchmans Cove			
		Ovenhead			
4	Estuaire	Rocher-Blanc	3	2	0.00304
2	Northumberland	Tor Bay	29	9	0.00281
		Johnstown			
		Saint Peter			
		Point aux Carr			
		Murray Corner			
		Marshville			
		Arisaig			
		Mahoney's Beach			
		Pleasant Bay			
		Chéticamp			
		Pictou Island			

Tableau 3. Distances génétiques F_{ST} entre les régions pour *G. oceanicus*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	0.00000															
2	0.02571	0.00000														
3	0.56852	0.71011	0.00000													
4	0.43044	0.58030	0.07796	0.00000												
5	0.43912	0.55058	-0.02109	0.16709	0.00000											
6	0.38973	0.49671	0.01727	0.16694	0.02665	0.00000										
7	0.29900	0.52631	0.51852	0.31561	0.35084	0.31016	0.00000									
8	0.10130	0.29854	0.55167	0.33367	0.37534	0.33658	0.16630	0.00000								
9	0.33301	0.51159	0.61063	0.40500	0.43543	0.39324	0.27449	0.14313	0.00000							
10	0.15566	0.35562	0.33099	0.16283	0.24824	0.22762	0.06460	-0.05904	0.11647	0.00000						
11	0.66351	0.73808	0.61532	0.45560	0.33491	0.27330	0.73793	0.70061	0.73771	0.60759	0.00000					
12	0.53635	0.63827	0.50657	0.28407	0.26692	0.21285	0.60169	0.54664	0.61534	0.42706	0.30346	0.00000				
13	0.26688	0.48691	0.23316	0.07749	0.18842	0.16598	0.14663	0.13304	0.24550	0.00079	0.47427	0.29927	0.00000			
14	0.35217	0.46654	0.12013	0.20363	0.19796	0.18339	0.29889	0.32423	0.39999	0.24929	0.20988	0.17276	0.15412	0.00000		
15	0.36000	0.50092	0.14706	0.33017	0.31113	0.27769	0.20697	0.33106	0.42133	0.25731	0.43249	0.34366	0.18275	0.24833	0.00000	
16	0.75653	0.82311	0.87986	0.72376	0.69617	0.64999	0.73865	0.68257	0.69404	0.63604	0.90374	0.86635	0.70871	0.69493	0.77211	0

Légende : 1- Île-du-Prince-Édouard (ouest), 2- Île-du-Prince-Édouard (est), 3- Nouvelle-Écosse (côte Atlantique), 4- Cap-Breton 2, 5- Minas Basin, 6-Fundy, 7-Miramichi, 8- Cap-Breton 1, 9-Northumberland Strait, 10- Pictou, 11- Estuaire-sud, 12- Estuaire-nord, 13- Baie des Chaleurs, 14- Gaspésie, 15- Côte-Nord, 16- Îles-de-la-Madeleine.

Tableau 4. Distances génétiques F_{ST} entre les régions pour *P. platensis*.

	1	2	3	4	5	6	7
1	0.00000						
2	0.05762	0.00000					
3	0.09889	0.01072	0.00000				
4	0.00495	0.07167	0.06199	0.00000			
5	0.10000	0.16762	0.14055	0.01652	0.00000		
6	0.20523	0.18899	0.22215	0.10036	0.01728	0.00000	
7	0.01377	0.14931	0.14236	-0.05699	-0.04327	0.02166	0.00000

Légende : 1- Îles-de-la-Madeleine, 2- Île-du-Prince-Édouard, 3- Northumberland, 4- Nouvelle-Écosse (côte Atlantique), 5- Fundy, 6- Gaspésie, 7- Estuaire.

Tableau 5. AMOVA hiérarchique avec et sans les populations insulaires de *G. oceanicus*. Les indices significatifs ($p < 0.05$) sont marqués avec astérisque (*).

	Avec Îles-de-la-Madeleine			Sans Îles-de-la-Madeleine		
	Variance	% de variation	Indices de fixation	Variance	% de variation	Indices de fixation
Entre groupes	1.10281	39.39	0.39395*	0.99276	32.49	0.32489*
Entre régions dans les groupes	0.16030	5.73	0.09449*	0.11170	3.66	0.05415*
À l'intérieur des régions	1.53626	54.88	0.45121*	1.95119	63.86	0.36145*

Tableau 6. AMOVA hiérarchique avec et sans les populations insulaires de *P. platensis*. Les indices significatifs ($p < 0.05$) sont marqués avec astérisque(*).

	Avec Îles-de-la-Madeleine			Sans Îles-de-la-Madeleine		
	Variance	% de variation	Indices de fixation	Variance	% de variation	Indices de fixation
Entre groupes	0.08201	5.15	0.05146	0.13091	7.27	0.07271
Entre régions dans les groupes	0.07168	4.50	0.04741	0.06108	3.39	0.03659
À l'intérieur des régions	1.44016	90.36	0.09643*	1.60842	89.34	0.10664*

4. DISCUSSION

En ce qui concerne la relation phylogénétique entre les haplotypes de COI, la différence de complexité et le nombre d'haplotypes entre les deux espèces est une indication de patrons évolutifs différents entre *P. platensis* et *G. oceanicus*.

Le projet visait surtout les populations de la Gaspésie et celles des Îles-de-la-Madeleine. Les Îles-de-la-Madeleine, compte tenu de leur distance du continent, représentent un habitat insulaire favorisant l'émergence de populations génétiquement distinctes chez ces deux espèces. Quant au littoral gaspésien, compte tenu des vents dominants de la région et des courants marins, il pourrait constituer avec l'Île d'Anticosti le point d'origine le plus probable d'organismes parvenant aux Îles-de-la-Madeleine par un processus de dérive de ~200 km (Gaspésie) ou ~160 km (Anticosti), vers l'est ou le sud-est, respectivement. Il est aussi possible que l'immigration de certains organismes puisse avoir lieu à partir de la presqu'île du Cap-Breton (> 85 km au sud-est) ou de l'Île-du-Prince-Édouard (> 85 km au sud), notamment en période estivale, lorsque les vents (relativement faibles) peuvent souffler de ces régions vers les Îles-de-la-Madeleine. Le jeu de courants et de vents dans le Golfe rend moins probable comme point d'origine la côte terre-neuvienne, située à ~160 km à l'est des Îles-de-la-Madeleine.

Chez *G. oceanicus*, les patrons de divergence génétique indiquent que les populations des Îles-de-la-Madeleine sont génétiquement divergentes d'autres populations du Golfe et de l'estuaire. Par contre, d'autres populations démontrent également de bonnes divergences, donc on ne peut conclure que les populations des Îles-de-la-Madeleine sont les plus divergentes du Golfe et de l'estuaire. Pour *P. platensis*, les populations de Gaspésie sont celles qui démontrent les plus fortes valeurs de divergences génétiques. Par contre les populations de *P. platensis* et *G. oceanicus* des Îles-de-la-Madeleine ne sont pas suffisamment distinctes pour constituer des groupes monophylétiques. Les analyses en réseaux « minimum spanning » indiquent que les Îles-de-la-Madeleine n'ont pas été la source pour la colonisation du Golfe suite aux glaciations du Pléistocène chez les deux espèces (Hamilton 2002). Le fait que des haplotypes privés de *G. oceanicus* et de *P. platensis* soient retrouvés uniquement aux Îles-de-la-Madeleine suggère que nous sommes au début d'une trajectoire évolutive différente de ces deux espèces. Des études futures devraient utiliser un gène mitochondrial moins conservé (ex. région de contrôle) afin d'avoir une meilleure résolution sur la structure génétique de ces deux espèces.

Remerciements

Les auteurs de l'étude tiennent à remercier la Direction du patrimoine écologique et des parcs, ainsi que le bureau des Îles-de-la-Madeleine, du ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec pour l'autorisation à accéder à la réserve écologique de l'Île Brion (no. réf. : 5141-03-11 [1.02]).

Références citées

- Bousfield EL (1973). Shallow-water Gammaridean Amphipoda of New England. Cornell University Press, Ithaca, New York
- Brunel P, Bosse L, Lamarche G (1998). Catalogue of the marine invertebrates of the Estuary and Gulf of St. Lawrence. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences 126, National Research Council of Canada, Ottawa
- Clement M, Posada D, Crandall K (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, **9**: 1657-1660
- Drake DR, Mulder CPH, Towns DR, Daugherty CH (2002). The biology of insularity: An introduction. *Journal of Biogeography*, **29**: 563-569
- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005). Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, **1**: 47-50
- 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.
- Hamilton AKG (2002). Iles-de-la-Madeleine (Magdalen Is): a glacial refugium for short-horned bugs (*Homoptera: Auchenorrhynca*). *Le Naturaliste canadien*, **126**: 25-40
- Kimura M (1980). A simple method of estimating evolutionary rate of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, **16**: 111-120
- Sa-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
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007). MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 10.1093/molbev/msm092
- Thiel M, Gutow L (2005). The ecology of rafting in the marine environment. II. In: The rafting organisms and community, p. 279-418, *Oceanography and Marine Biology - an Annual Review*, vol. **43**