

DISCRIMINATION DE TROIS POPULATIONS D'ANCHOIS DU GENRE *ENGRAULIS* (CLUPEIFORME, ENGRAULIDAE) DES COTES TUNISIENNES PAR ANALYSE DE FORME DES OTOLITHES

Hassène MESSAOUD^{*(1,2)}, Nawzet BOURIGA^(1,4), Mohamed Néjib DALY YAHIA², Moncef BOUMAIZA³, Eric FAURE⁴, Jean Pierre QUIGNARD⁵ et Monia TRABELSI¹

¹Unité de biologie marine. Faculté des sciences de Tunis 2092 Campus universitaire. Tunisie.

²BFSA-GRHP, Faculté des sciences de Bizerte, Zarzouna 7021. Tunisie.

³Unité d'hydrobiologie, LBE, Faculté des sciences de Bizerte, Zarzouna 7021. Tunisie.

⁴LATP, CNRS-UMR 6632, Evolution biologique et modélisation, case 5, Université de Provence, Place Victor Hugo, 1331 Marseille cedex 3 France.

⁵Laboratoire d'Ichtyologie, Université Montpellier II, place Eugène Bataillon, case 102, 34095 Montpellier cedex 5 France

* benmessaooud.hassene@yahoo.fr

ملخص

تميز ثلاث مجموعات من سمك الأنشوجة (*anchois genre Engraulis*) بالسواحل التونسية بالاعتماد على شكل حصيات الأذن الداخلية. لقد توصلت البحوث الجينية إلى تأكيد عدم تجانس مخزون سوك الأنشوجة (البلم أو الأنشوجة حسب منظمة الفاو FAO) بالبحر الأبيض المتوسط. في إطار هذا البحث قمنا بدراسة عدم التجانس هذا بالاعتماد على شكل الحصيات (Otolithe) التي توجد بالأذن الداخلية مستندين في ذلك على طريقة "فورييه" (تحليل القطعي الناقصي لفورييه Analyse elliptique de Fourier) وقد شكنا بفضل هذه الطريقة وبعد التحاليل الإحصائية من التحقق من عدم تجانس مخزون لمياه التونسية من سوك الأنشوجة، إذ توصلنا إلى فصل ثلاث مجموعات من هذه الأسماك، جلبت من ثلاث مواقع مختلفة. كلمات مفتاح: سوك البلم (*anchois*), الحصيات (otolith), علم التشكل, فورييه.

RESUME

En Janvier 2008, trois lots d'anchois ont été capturés dans les eaux tunisiennes : un lot dans la lagune de Bizerte, un lot dans le littoral de Korba et un lot près de l'île Zembra (les trois sites dans la Tunisie septentrionale). Une étude otolithométrique a été appliquée afin d'étudier l'hétérogénéité des stocks d'anchois colonisant les eaux tunisiennes. En effet, l'étude de la forme des otolithes basée sur l'analyse elliptique de Fourier, est une nouvelle et puissante technique. Les descripteurs de Fourier sont caractérisés par des harmoniques que chacune est représentée par quatre coefficients. L'analyse statistique de ces coefficients permet la séparation des individus étudiés. L'application de cette technique nous a permis de séparer par une analyse canonique discriminante trois populations d'anchois récoltés dans les eaux tunisiennes.

Mots clés : anchois (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) ; otolithes ; analyse de forme ; Shape ; analyse elliptique de Fourier.

ABSTRACT

Discrimination of three populations of anchovy from Tunisian coast using otolith shape analysis : Recently it has been confirmed genetically, the heterogeneity of anchovy colonizing the Mediterranean. In this work, we became interested in the study of this heterogeneity in Tunisian waters, through analysis and comparison of shapes of otoliths. Indeed, this method based on elliptic Fourier analysis is a powerful new technique. The Fourier descriptors are characterized by harmonics that each is represented by four coefficients. Statistical analysis of these factors allows the separation of specimens studied. Applying this technique allowed us to separate three populations of anchovies caught in Tunisian waters.

Keyword: Anchovy, otolith, shape, elliptic Fourier analysis.

INTRODUCTION

L'anchois européen, *Engraulis encrasicolus* L. 1758, est un petit poisson pélagique largement répandu de la mer du Nord au centre de l'Afrique en colonisant la Méditerranée et la mer Noire (Grant et Bowen, 1998).

C'est une espèce qui supporte de grandes variations des paramètres physico-chimiques environnementaux d'où sa présence dans différents milieux aquatiques (mer, lagune, estuaire...). Cette espèce est un élément essentiel pour les écosystèmes marins du fait de sa biomasse importante et de sa position dans les

réseaux trophiques en occupant un maillon central assurant un lien crucial entre la production planctonique et les grands piscivores (Palomera *et al.*, 2007). Plusieurs études ont signalé l'hétérogénéité des stocks de cette espèce (Magoulas *et al.*, 1996, 2006; Borsa, 2002) et on suggère la présence de plus qu'une forme en méditerranée. Cette espèce a eu l'occasion d'être largement étudiée dans la rive nord de la Méditerranée par rapport à la rive sud où on ne trouve que quelques ouvrages, à savoir, Arrignon, 1966 ; Quignard, 1973 ; Hemida, 1987 ; Gaamour *et al.*, 2004 ; Khemiri *et al.*, 2007 et Bacha *et al.*, 2009.

En utilisant l'outil otolithométrique, le présent travail tient à étudier cette hétérogénéité dans les eaux tunisiennes. En fait les otolithes, caractérisant les Ostéichthyens, sont des concrétions de carbonate de calcium disposées d'une manière concentrique autour d'un nucleus et localisés dans l'oreille interne. Ils sont connus pour renfermer des renseignements du stock de poissons auxquels ils appartiennent (Campana *et al.*, 1993). Les dimensions précises du nucleus représentent des critères fiables de reconnaissance de stocks, de races et de populations sympatriques (Currens *et al.*, 1988). En effet, l'analyse de forme de l'otolithe permet l'identification et la discrimination des stocks (Cardinale *et al.*, 2004) ainsi que la différence de forme au sein d'un même stock peut renseigner sur la présence de mutations génétiques ou des influences

environnementales (température, salinité, régime alimentaire,...). Le propos de cette étude sera donc, de mettre en évidence, dans trois milieux aquatiques différents, de notre pays, l'existence ou non de populations différentes de *E. encrasicolus* à partir du pouvoir discriminant de la forme des otolithes.

MATERIEL ET METHODES

Les poissons ont été capturés en Janvier 2008 des trois stations suivantes: un premier lot est collecté dans la lagune de Bizerte par une épuisette, un deuxième lot est pêché dans le littoral de Korba par des chaluts pélagiques à une profondeur relativement faible ne dépassant pas les 30 mètres ; c'est la population du littoral et un troisième lot pêché près de l'île Zembra (NE Tunisie) par des chaluts pélagiques à une profondeur dépassant les 70 mètres c'est la population du large. Les deux derniers lots ont été rapportés par des pêcheurs professionnels (**fig. 1**).

Tous les spécimens sont mesurés au millimètre près. Ils présentent les longueurs standards moyennes suivantes : 123,76 mm, 100,30 mm, 66,35mm, respectivement pour la population du large, la population du littoral et la population de la lagune de Bizerte, (chaque population est représentée par 60 individus).

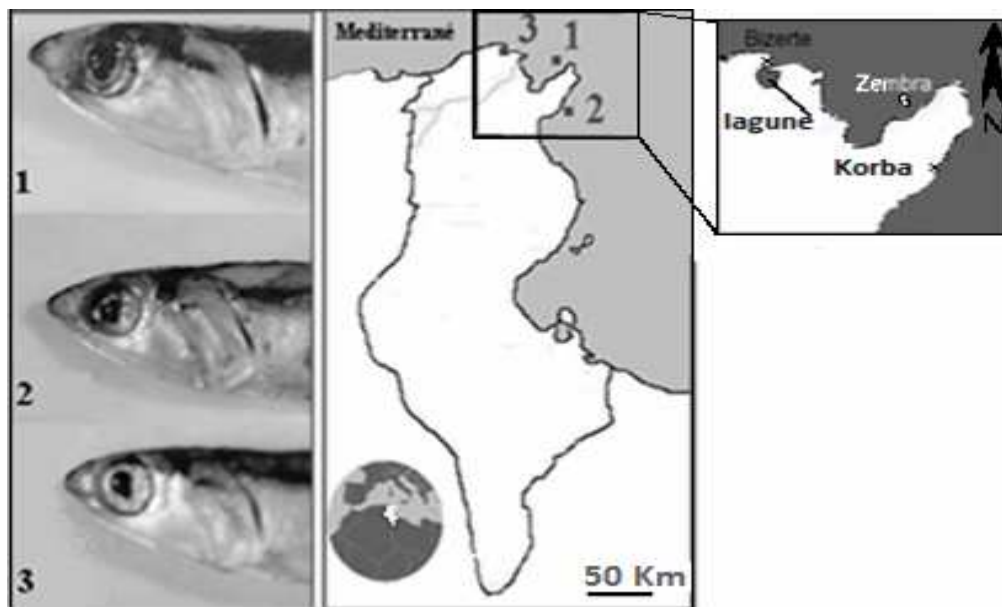


Fig. 1 : Sites d'échantillonnage et spécimens étudiés

Prélèvement des otolithes

Le poisson est maintenu entre les doigts, le ventre vers le haut, on écarte les opercules et on enlève les

branchies en les coupant à l'aide d'un ciseau. On appuie délicatement sur l'Atlas et l'Axis jusqu'à la rupture de l'articulation liant ces deux vertèbres au

neurocrâne. En essayant les liquides jaillissants (liquides céphaliques, endolymph + sang), on distingue deux petits corpuscules blanchâtres un de chaque côté et qui sont logés dans des cavités couvertes par une mince membrane transparente (la membrane du labyrinthe) : ce sont les otolithes. On prélève ces derniers soigneusement, on les rince avec de l'eau distillée puis on les conserve bien sec

enroulés dans du papier filtre et du coton dans des tubes Eppendorf.

Photographie des otolithes

L'otolithe est mis sur une lame, sur sa face concave, puis monté sous loupe (type Leica MZ12.5) reliée à un micro-ordinateur pour être photographié à l'aide d'un appareil photo numérique (type Leica DFC 280) (fig. 2).

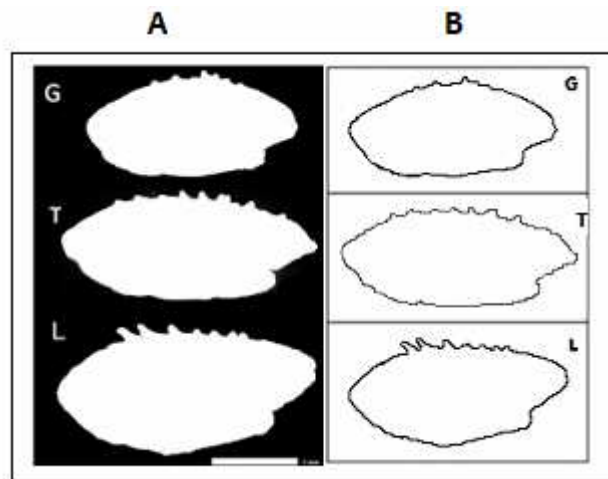


Fig.2 : Photo de sagitta d'anchois européen *Engraulis* sp

G = lagunaire ; T = du littoral ; L = du large.

A : photo brut,

B : après traitement avec Shape

Traitement des photos

Les photos des otolithes sont d'abord traitées par ArcSoft Photo Studio software afin de les transformer en images binaires utilisables par le logiciel Shape qui est un logiciel du japonais Hiroyoshi Iwata (Iwata et Ukai, 2002), et qui utilise un algorithme de codage de chaîne de Freeman, pour extraire les découpes du contour d'otolithe en vue de l'analyse de Fourier.

L'analyse mathématique de la forme de l'otolithe est réalisée par l'Analyse Elliptique de Fourier (A.E.F.). Cette technique permet de calculer le Fourier Power (F.P.), le pourcentage du Fourier Power (F.P. %) et le pourcentage cumulé du Fourier Power (F.P. % cumulé).

Les formules sont données par les expressions suivantes :

$$\text{Fourier Power : } PF = \frac{A_n^2 + B_n^2 + C_n^2 + D_n^2}{2}$$

Avec A_n , B_n , C_n et D_n les coefficients de Fourier.

Pourcentage du Fourier Power:

$$PF\% = (PF_n / \sum_1^n PF_n) \times 100$$

Pourcentage cumulé du Fourier Power :

$$PF_n\%_c = \sum_1^n PF_n\%$$

Le pourcentage cumulé du Fourier Power (P.F._n %) est calculé dans le but de déterminer le nombre nécessaire et suffisant d'harmoniques pour une meilleure construction de la silhouette de l'otolithe. Celle-ci est obtenue pour une valeur égale à 99.99 % de la moyenne du pourcentage cumulé du Fourier Power (P.F._n %).

Les résultats sont, ensuite, transformés en Microsoft Excel afin qu'ils soient utilisables par le logiciel de statistique.

Analyses statistiques

Pour une meilleure estimation des divergences entre les échantillons, nous avons procédé à des analyses multidimensionnelles traitant simultanément tous les caractères et échantillons analysés. Les

analyses multi variées prises en considération sont : l'analyse discriminante (A.D.) et l'analyse canonique

discriminante (A.C.D.). Elles permettent de discriminer, au mieux, les échantillons d'une même espèce ou d'espèces différentes. Elles conduisent à une représentation graphique des différents échantillons dans un plan défini par les diverses composantes prises deux à deux. Tous les tests statistiques ont été réalisés par le logiciel SAS (Statistical Analysis System), version 6.12.

RESULTAT

L'analyse de Fourier adaptée dans notre travail, indique que la forme de l'otolithe de l'anchois peut être résumée par ses quinze premières harmoniques, c'est à dire les 60 premiers coefficients de Fourier, sachant que chaque harmonique est représentée par quatre coefficients. Cependant, les coefficients A, B, C, et D dérivant de la première harmonique ne sont pris en compte car la silhouette de cette première harmonique est une ellipse résultant du Fourier Power maximal. Et par conséquent, seuls les 56 premiers coefficients de Fourier permettent de définir au mieux la forme de l'otolithe de l'anchois (Tableau I).

Tableau I : Moyenne PF_c % des otolithes droits et gauches de chaque population.

Nombre de l'harmonique	lagune	large	littoral
1	98,7540062	98,542056	98,4332883
2	99,2232459	99,0471353	98,9994869
3	99,7863772	99,6927497	99,6430658
4	99,8270452	99,736471	99,7110008
5	99,9141579	99,8726247	99,8697675
6	99,932692	99,8984229	99,9002262
7	99,9572471	99,9445739	99,9439342
8	99,9666521	99,9567208	99,9554556
9	99,9753364	99,9709396	99,9652729
10	99,979348	99,9765707	99,9709816
11	99,9824713	99,9792817	99,9752697
12	99,9851996	99,982844	99,9793361
13	99,987627	99,9853612	99,9836944
14	99,9894984	99,98819	99,9874047
15	99,9918977	99,990623	99,9908822
16	99,993896	99,9927184	99,9932028
17	99,9956157	99,994902	99,9955542
18	99,9975321	99,9967259	99,9970054
19	99,998844	99,9984749	99,9987193
20	100	100	100

L'analyse discriminante met en évidence une nette séparation des différentes populations d'anchois étudiées. Tous les individus de chaque population se sont placés ensemble dans leur propre groupe. (Tableau II).

L'analyse canonique discriminante basée sur les otolithes droits et gauches fait avec les coefficients de Fourier montre une nette différence entre les trois populations d'anchois (**fig.3**). En effet, aucun chevauchement n'a été enregistré entre les individus des trois populations.

Tableau II : Nombre et pourcentage des observations pour chaque station.

STATION	lagune de Bizerte	Large	littoral	Total
g	30	0	0	30
	100.00	0.00	0.00	100.00
l	0	30	0	30
	0.00	100.00	0.00	100.00
t	0	0	30	30
	0.00	0.00	100.00	100.00
Total	30	30	30	90
Pourcentage	33.33	33.33	33.33	100.00

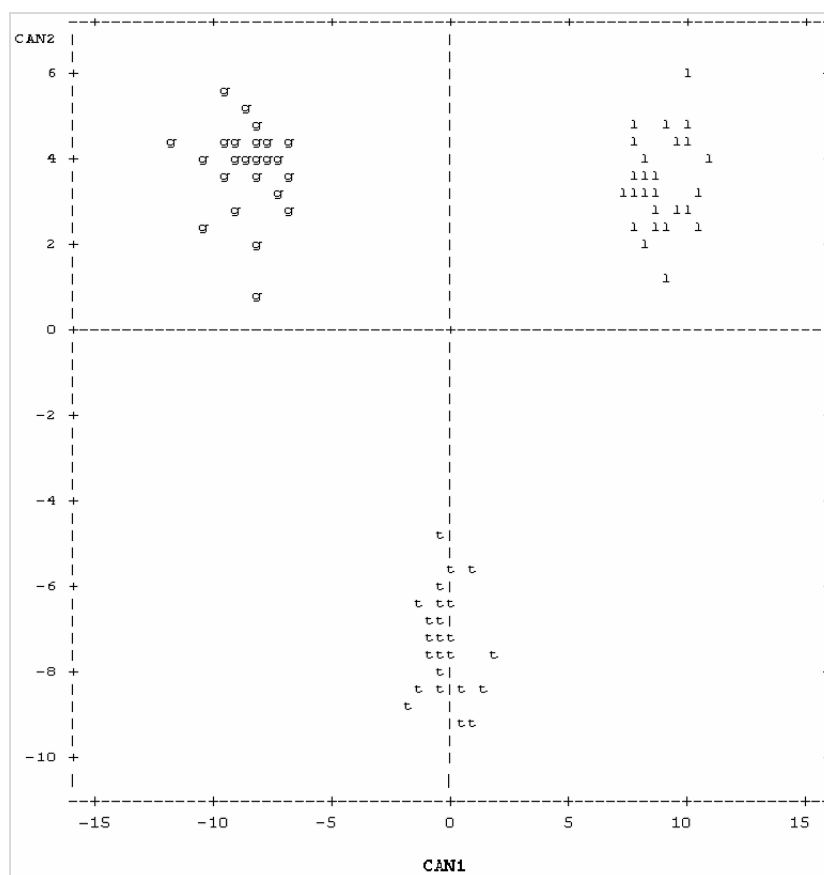


Fig. 3: Analyse canonique discriminante des trois populations d'anchois (otolithes droits) (g = anchois lagunaire, t = anchois du littoral, l = anchois du large).

Définition des axes et absorption de la variabilité

Pour les otolithes droits et gauches les deux premiers axes absorbent 100% de l'inertie globale.

Pour les otolithes droits, la première composante canonique (CAN 1) a une valeur propre de 53,1894 et absorbe à elle seule 65,52% de l'inertie. Tandis que la deuxième composante canonique (CAN 2) avec sa valeur propre de 27,9916, représente 34,48% de variabilité totale.

Concernant les otolithes gauches, l'axe 1 (CAN 1) a une valeur propre de 25,9569 et absorbe 82,59% de l'inertie totale. L'axe 2 (CAN2) avec sa valeur propre de 5,4734, représente 17,14% de la variabilité totale.

Projection des populations sur le plan 2-1 de l'A.C.D.

Les projections des points individus des trois populations sur le plan défini par les axes 1 et 2 révèlent une séparation des échantillons selon les axes pris en considération. (Tableau III).

Selon l'axe 1 l'anchois de la lagune de Bizerte se sépare nettement de celles peuplant le milieu marin. L'axe 2 sépare clairement les anchois du large de celle du littoral. En effet les centres de gravités des 2 polygones sont parfaitement distincts.

Les anchois marins (du littoral et du large) se singularisent par les valeurs les plus élevées définissant la partie positive de l'axe 1 et les plus basses représentant la partie négative du même axe (fig. 3).

Toutefois les anchois du littoral se caractérisent par les valeurs les plus élevées représentant la partie positive de l'axe 2 et les plus basses définissant la partie négative du même axe (fig. 3).

A l'opposé, les anchois du large se caractérisent par les valeurs les plus élevées définissant la partie négative de l'axe 2 et les plus basses définissant la partie positive du même axe (fig. 3).

Les anchois de la lagune de Bizerte se caractérisent par les valeurs les plus élevées définissant la partie négative de l'axe 1 et les valeurs les plus basses représentant la partie positive du même axe.

DISCUSSION

A partir de l'analyse canonique discriminante (**fig.3**) on constate qu'il ya une séparation complète des individus appartenant aux trois populations d'anchois, d'où l'apparition de trois groupes bien individualisés, se qui met en évidence l'existence de différences majeurs entre eux. En effet la discrimination entre les anchois marines (du littoral et du large), corrobore les résultats de Borsa (Borsa *et al.*, 2004), qui a mis en évidence l'existence de deux espèces d'anchois bien distinctes vivant en parapatrie, à savoir *E. encrasicolus* et *E. albidus*, en Méditerranée, et ceux sont des résultats à confirmer par des analyse génétiques.

La population de la lagune de Bizerte paraît bien individualisée, ce qui est en accord avec les observations de Quignard en 1971/1972 pour l'anchois du lac Ichkeul (Quignard *et al.*, 1973) où il a noté l'existence d'une population d'anchois très différente de celles d'origines marines et il l'a rapproché de celle trouvée par Dulzetto en Sicile et qui est considérée comme une sous espèce *E. encrasicolus russoi* (Dulzetto, 1947).

CONCLUSION

La variation de la forme des otolithes des poissons de populations distinctes géographiquement est un excellent moyen pour la discrimination des stocks et qui peut être un outil servant à la phylogénie. ce qui est très important pour la gestion des stocks. En effet en Méditerranée, les anchois côtiers sont vendus beaucoup plus cher auprès des mareyeurs français, espagnols ou italiens. Cependant leur exportation reste interdite à cause de la réglementation européenne actuelle qui n'autorise pas l'exportation d'anchois de taille inférieure à 12 centimètres. Cette clause, adoptée dans le souci de préserver les juvéniles et de garantir la pérennité des stocks, se réfère à la taille à maturité des seuls anchois pélagiques (forme du large), plus grands. La distinction des espèces d'anchois dans les statistiques de pêche et la révision de la réglementation devraient permettre une meilleure gestion de ces ressources.

Les traitements statistiques multi-variés (analyse discriminante et analyse canonique discriminante), confirment le rôle des otolithes dans la discrimination des trois populations d'anchois capturées dans trois milieux différents. En effet, l'absence de chevauchement entre les anchois de la lagune de Bizerte, du littoral et du large permet de considérer ces pièces anatomiques comme un excellent discriminant. Ces analyses appliquées sur les otolithes fournissent une technique capable de détecter non seulement les différences interspécifiques mais également les différences intraspécifiques, ce qui révèle l'importance de cette structure calcifiée pour la discrimination intraspécifique.

BIBLIOGRAPHIE

- Arrignon, J., 1966. L'anchois (*Engraulis encrasicolus*) des côtes d'Oranie. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*. 30 : 317 - 342.
- Bacha, M. and Amara, R. 2009. - Spatial, temporal and ontogenetic variation in diet of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) on the Algerian coast (SW Mediterranean). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 85: 257 - 264.

- Borsa, P. 2002. - Allozyme, mitochondrial-DNA, and morphometric variability indicate cryptic species of anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Biol. J.Linn.Soc.* 75. 261-269.
- Borsa, P., Collet, A., Durand, J.D. 2004. - Nuclear – DNA markers confirm the presence of two anchovy species in the Mediterranean. *C.R .Biologies* 327. 1113 - 1123.
- Campana, S.E., Casselman, J.M. 1993. - Stock discrimination using otolith shape analysis. *Can. J. fish. Aquat. Sci.* 50: 1062 - 1083.
- Cardinale, M., Doering-Arjes, P., Kastowsky, M., Mosegaard, H. 2004. - Effects of sex, stock, and environment on the shape of known-age atlantic cod (*Gadus morhua*) otoliths. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 61 (2): 158 - 167.
- Currens, K.P., Schreck, C.B., Li, H.W. 1988. - Reexamination of the use of otolith nuclear dimensions to identify juvenile anadromous and non-anadromous rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Fish. Bull. U.S.* 86: 160 - 163.
- Dulzetto, E. 1947. - L'*Engraulis* dei laghidi Ganzirri e del Faro. *Mem. Soc. Ital. dei XL*, 3 (XXVI). P 5 - 28.
- Gaamour, A., Khemiri, S., Mili, S., Ben Abdallah, L. 2004. - L'anchois (*Engraulis encrasicolus*) des côtes nord de la Tunisie: reproduction et exploitation. *Bulletin de l'Institut National Scientifique et Technique d'Océanographie et de Pêche de Salammbô* 31, 17 - 24.
- Hemida, F. 1987. Contribution à l'étude de l'anchois *Engraulis encrasicolus* (L.1758) dans la région d'Alger. Biologie et exploitation, Thèse de Magister, USTHB, Alger.
- Khemiri, S., Gaamour, A., Meunier, F., Zylberberg, I. 2007. - Age and growth of *Engraulis encrasicolus* (Clupeiforme: Engraulidae) in the Tunisian waters. *Cah. Biol. Mar.* 48: 259 - 269.
- Grant, W.S., Bowen, B.W., 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardine and anchovies and lessons for conservation. *Journal of heredity* 89, 415- 426.
- Iwata, H., Nesumi, H., Ninomiya, S., Takano, Y., Ukai, Y., 2002. - The evolution of genotype x environment interaction of citrus Leaf morphology using image analysis and Elliptic Fourier descriptors. *Breeding science* 52 : 243 - 251.
- Magoulas, A., Tsimenides, N., Zouros, E. 1996. - Mitochondrial DNA phylogeny and the reconstruction of the population history of a species: the case of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Mol. Biol. Evol.* 13: 178 - 190.
- Magoulas, A., Castilho, R., Caetano, S. Paternello, T. 2006. - Mitochondrial DNA reveals a mosaic pattern of phylogeographical structure in Atlantic and Mediterranean populations of anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Mol. Phyl. Evol.* 39: 734-746.
- Palomera, I., Olivar, M.P., Salat, J., 2007. Small pelagic fish in the NW Mediterranean Sea: an ecological review. *Progress in Oceanography* 74, 377–396.
- Quignard, J.P., Hamdouni, T., Zaouali, J. 1973. - Données préliminaires sur les caractères biométriques des anchois *Engraulis encrasicolus* (Linnée, 1758) des côtes de Tunisie et du lac Ichkeul. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes.* 37 : 191 - 196.