

VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE ENTRE LES CLASSES D'ÂGE CHEZ LE PAGEOT COMMUN (*PAGELLUS ERYTHRINUS*, SPARIDAE) DES CÔTES NORD TUNISIENNES

Chiheb FASSATOUI et M. S. ROMDHANE

Unité de Recherche Ecosystèmes & Ressources Aquatiques (UR03AGRO1) - Institut National Agronomique de Tunisie - 43, Avenue Charles Nicolle 1082, Tunis - Université de Carthage - Tunisie.
fassatouichiheb@yahoo.fr

ملخص

التنوع الوراثي بين الفئات العمرية لدى سمك المرجان (*Pagellus erythrinus*, Sparidae) بسواحل الشمال التونسي : لقد تم دراسة التنوع الوراثي بين الفئات العمرية لدى سمك المرجان بواسطة تقنية الرّحل الكهربائي الأنزيمي. شملت هذه الدراسة على 251 عينة، جمعت من الساحل الشمالي للبلاد التونسية. وقع تقدير سن الأسماك بطريقة غير مباشرة، عبر معاينة حصة الأذن. المنظومات الأنزيمية الأربع عشرة التي استخدمت، تبين أنها مندرجة من إحدى وعشرون موضعا جينيا، منها عشرة مواضع متعددة الأشكال على مستوى 99 بالمائة. وقد بلغ معدل متباين الألائل المتوقع والغير متحيز 0,048، وتبقى هذه النسبة مماثلة لما أفيدت به الدراسات الأخرى للكائنات السمكية، بما في ذلك عائلة الصبارص. التحقق من توازن "هاردي - ونبرغ" يظهر خروجاً ذو معنى لما هو معهود به في حالة التكاثر العشوائي مع نقص في أفراد متباين الألائل. أما بالنسبة لمؤشر التنوع الوراثي، فقد بلغ 0,0004. هذا التقدير لا يبين أي اختلاف وراثي ذو معنى بين الفئات العمرية، دالا بذلك على وجود استقرار زمني. أخيراً، عند مقارنة التنوع الجيني بين الفئات العمرية تبين أن هنالك ارتفاع في نسبة متباين الألائل متماشية مع سن الأسماك، مؤيدة بذلك فرضية ارتفاع الفرق في الإنجاب بنجاح. **الكلمات المفتاحية** : *Pagellus erythrinus*، العلامات الأنزيمية، التنوع الوراثي، الاستقرار الزمني، سواحل الشمال التونسي.

RESUME

La variabilité génétique entre les classes d'âge du pageot commun, *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, 1758 ; Sparidae) a été appréhendée par une analyse isoenzymatique. L'étude a été portée sur 251 spécimens des côtes Nord de la Tunisie. L'âge des poissons a été estimé indirectement par analyse otolithométrique. Les quatorze systèmes enzymatiques utilisés sont codés par 21 loci dont 10 sont polymorphes au seuil de 99%. Le taux d'hétérozygotie attendu non biaisé moyen ($H_{nb} = 0,048$) est comparable à celui rapporté chez les espèces ichthyologiques, notamment les Sparidés. La vérification de l'équilibre de Hardy-Weinberg montre un écart significatif à la panmixie dans le sens d'un déficit en Hétérozygotes ($F_{IS} = 0,116$, $p < 0,001$). L'indice de diversité génétique (F_{ST}) obtenue est de 0,0004. Cette valeur n'indique aucune différenciation génétique significative entre les classes d'âge suggérant ainsi une stabilité temporelle. Enfin, la comparaison de la diversité génétique dévoile une augmentation des valeurs H_{nb} avec l'âge des poissons supportant ainsi l'hypothèse de la haute variance dans le succès reproducteur.

Mots clés : *Pagellus erythrinus*, marqueurs allozymiques, diversité génétique, stabilité temporelle, côtes Nord tunisiennes.

ABSTRACT

Genetic variability between age classes in the common pandora (*Pagellus erythrinus*, Sparidae) of the North Tunisian coasts: Genetic variability between age groups of the common pandora, *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, on 1758; Sparidae) was examined by allozyme markers. The study was carried out using 251 specimens, collected from the North Tunisians coasts. Ages were estimated indirectly from fish otoliths. The fourteen enzymatic systems used are encoded by 21 loci, among which 10 are polymorphic at a level of 99%. The mean unbiased expected heterozygosity ($H_{nb} = 0.048$) is comparable to those who was reported in ichthyologic species, including Sparid family. The verification of the Hardy-Weinberg equilibrium showed a significant deviation from panmixia with heterozygotes deficiency ($F_{IS} = 0.116$, $p < 0.001$). The genetic diversity index (F_{ST}) obtained was 0.0004. This value indicates no significant genetic differentiation between age groups suggesting temporal stability. Finally, comparison of genetic diversity revealed an increasing of H_{nb} values concurrent with age, supporting the sweepstakes-chance matching hypothesis.

Key words: *Pagellus erythrinus*, Allozyme markers, genetic diversity; temporal stability; North Tunisian coasts.

INTRODUCTION

Le pageot commun, *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, 1758), est un poisson marin démersal appartenant à la famille des Sparidés. Il est largement répandu en Méditerranée, en Mer Noire et en Atlantique Oriental

du Norvège jusqu'aux côtes Sud d'Angola (Fischer *et al.*, 1987). Cette espèce est plus commune de 10 à 100 m de profondeur (Spedicato *et al.*, 2002) et elle est principalement hermaphrodite protogyne (Buxton et Garratt, 1990).

Pagellus erythrinus est une espèce halieutique de haute valeur commerciale bien appréciée par les consommateurs. En outre, elle est considérée comme une espèce candidate et prometteuse pour la diversification de l'aquaculture étant donné sa haute commercialisation, son prix raisonnable et la possibilité de sa production en captivité (Klaoudatos *et al.*, 2004 ; Micale *et al.*, 2006 ; Kousoulaki *et al.*, 2007).

Aujourd'hui, le déclin important des ressources halieutiques est dû à plusieurs facteurs reliés surtout à l'activité humaine (e.g. la surexploitation, la pollution marine, ...). Afin d'assurer une meilleure gestion des stocks pour palier à cette diminution, il importe d'avoir des stratégies pour la conservation.

L'aquaculture à elle seule est insuffisante à cause des plusieurs contraintes (coût élevé en matériel et en personnel, problèmes pathologiques, ...). La nécessité de l'intervention directe sur les milieux naturels de la ressource est devenue une exigence tant sur le plan biologique (conservation des espèces) qu'économique (préservation de l'activité de pêche).

Deux approches sont couramment utilisées pour l'étude de l'origine des variations qui peuvent subir les populations : l'une démographique et l'autre génétique. L'étude de la variation génétique dans le temps et dans l'espace a été largement reconnue comme une approche efficace pour la conservation et la gestion de la ressource dans son environnement (Ward, 2000). L'analyse génétique spatiale des populations naturelles est importante pour l'identification des stocks et l'explication des mécanismes responsable de la structuration. Cependant, l'analyse génétique temporelle contribue à la compréhension de la dynamique des changements des fréquences alléliques à travers le temps. Une différenciation génétique temporelle significative peut signaler l'existence des effets stochastiques (que se soient d'ordre environnementaux, démographiques ou génétiques) aboutissant à une faible taille efficace (Gold *et al.*, 1993 ; Hedgecock, 1994a) et par conséquent peuvent indiquer l'occurrence d'une crise démographique ou d'un goulot d'étranglement. Cependant, une stable variation génétique temporelle chez des populations appartenant à des pools génétiques différents (populations structurées) peut indiquer la persistance de leurs états à travers le temps, et par conséquent chacune d'entre elles peut développer une dynamique de population indépendante de l'autre (Gold *et al.*, 1993 ; Brown *et al.*, 1996 ; Ruzzante *et al.*, 1997).

Notre présent travail consiste à étudier la variation génétique temporelle à court terme chez une population du *Pagellus erythrinus* collectée aux côtes Nord de la Tunisie. Pour cela, la totalité de l'échantillonnage sera groupée par âge grâce à une analyse otolithométrique. À l'aide de marqueurs génétiques allozymiques dont la majorité est mise au

point dans une étude antérieure (Fassatoui *et al.*, 2008), nous projetons d'étudier l'évolution de la diversité génétique au sein des classes d'âge et à tester la stabilité temporelle des fréquences alléliques.

MATERIEL ET METHODES

Matériel biologique

Les échantillons de *Pagellus erythrinus* ont été obtenus au large des côtes Nord de la Tunisie (Fig. 1). Les analyses ont été portées sur un total de 251 individus collectés du 29 Novembre 2006 au 28 Décembre 2007. Cette collecte a été effectuée sur le lieu de débarquement auprès du grand port régional de Bizerte. Une enquête préalable a été menée sur le champ de collecte afin de vérifier l'origine géographique des poissons et les techniques de prélèvements employées. La capture des échantillons a été réalisée par diverses techniques de pêches, principalement les filets maillants et les chaluts. Les individus capturés ont été ramenés directement au laboratoire dans une glacière. Dès leur arrivée, ils sont stockés au congélateur (-25 °C) jusqu'à la dissection.

Mensuration et détermination de sexe et de l'âge

Au laboratoire, la longueur standard de chaque poisson a été mesurée au millimètre près. Le sexe a été déterminé macroscopiquement par observation directe des gonades après dissection. L'âge a été déterminé par analyse otolithométrique en comptant directement le nombre d'arrêt de croissance hivernal (stries annuelles) d'un des otolithes sous une loupe binoculaire, selon la méthode de Bagenal et Tesch (1978). La procédure de lecture a été effectuée trois fois pour chaque poisson par des lecteurs indépendants. Les otolithes qui présentent des lectures différentes, ont été lus pour la quatrième fois. La Figure 2 indique la distribution du nombre d'individus échantillonnés en fonction de l'âge, du sexe ainsi que de la longueur standard moyenne de chaque classe d'âge. L'âge des plus grands spécimens a été estimé à 7 ans et correspond à un mâle. Cette classe d'âge n'a pas été utilisée pour la suite de notre travail à cause du faible effectif.

Analyse électrophorétique

Sur chaque individu disséqué, des fragments de muscles et de foie ($\approx 0,4$ g) ont été prélevés, homogénéisés dans une solution de broyage à pH 6,8 (Tris : 1,2 g/l, EDTA : 0,37 g/l, NADP : 0,04 g/l) et centrifugés à 10000 tours/minute pendant 10 minutes à +4°C. Les surnageants contenant les extraits d'enzymes solubles ont été récupérés et conservés à -25°C.

Les électrophorèses ont été réalisées à +4°C, sur des gels horizontaux d'amidon hydrolysé à partir des pommes de terre à 11% de concentration. Quatorze systèmes enzymatiques codés par 21 loci sont analysés dans la présente étude (Tableau I).

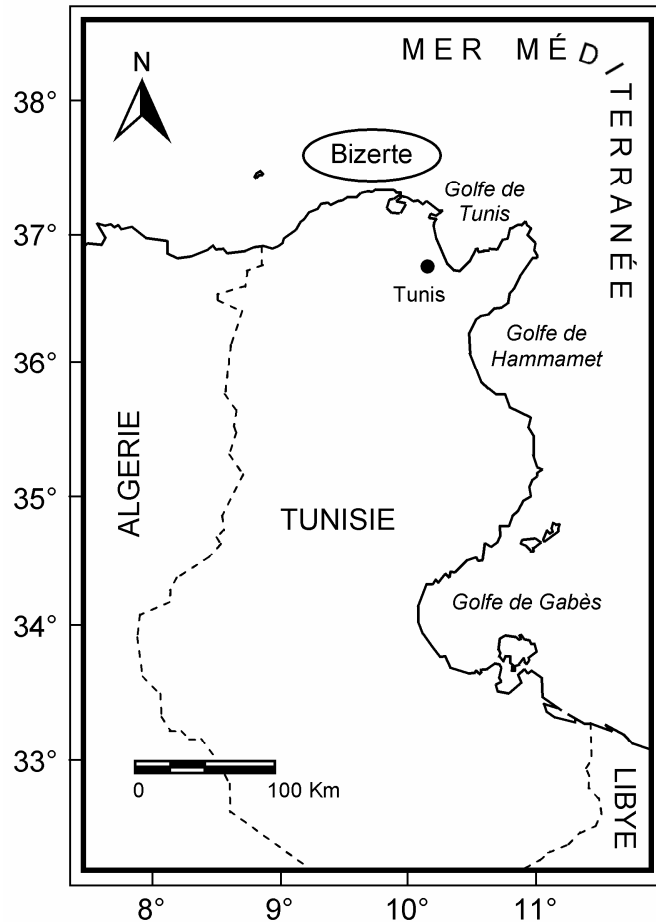


Figure 1 : Site d'échantillonnage de *Pagellus erythrinus*. Le site est encerclé au niveau du large de Bizerte (côtes Nord de la Tunisie).

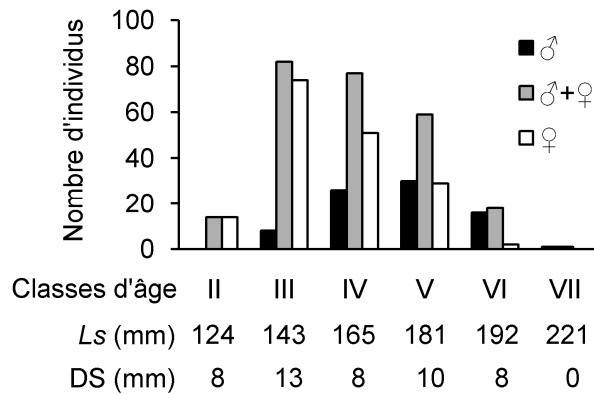


Figure 2 : Distribution du nombre d'individus de *Pagellus erythrinus* échantillonnés des côtes Nord de la Tunisie en fonction de sexe et des classes d'âge. *Ls*, longueur standard moyenne des *Pagellus erythrinus* et *DS*, sa déviation standard estimées pour chaque classe d'âge.

Les procédures de coloration histochimique ont été effectuées selon les recettes décrites par Pasteur *et al.* (1987). Les tampons employés pour chaque système enzymatique sont précisés dans le Tableau I.

Les noms des systèmes enzymatiques et leurs numéros ont été exprimés selon les recommandations de l'IUBNC (*International Union of Biochemistry, Nomenclature Committee*). La nomenclature des loci

a été celle adoptée par Shaklee *et al.* (1990) pour les poissons. Des indices sont attribués aux allèles, l'indice "100" est attribué arbitrairement à l'allèle le plus fréquent. Les autres variants alléliques auront d'autres indices supérieurs ou inférieurs selon leur distance de migration par rapport à l'allèle de référence "100".

Tableau I : Systèmes enzymatiques étudiés chez *Pagellus erythrinus* des côtes Nord de la Tunisie et conditions expérimentales utilisées ; EC, enzyme commission number.

Nom du système enzymatique	EC	Loci	Tampon ^A	Tissus ^B
Alcool-déshydrogénase	1.1.1.1	<i>ADH</i> *	TBE 9	F
Glucose-6-phosphate-déshydrogénase	1.1.1.49	<i>G6PDH</i> *	TC 8	F
Glucose-6-phosphate-isomérase	5.3.1.9	<i>GPI-1</i> *	TC 8	F, M
		<i>GPI-2</i> *	TC 8	M
Glycérol-3-phosphate-déshydrogénase	1.1.1.8	<i>G3PDH</i> *	TC 8	M
Isocitrate-déshydrogénase (NADP+)	1.1.1.42	<i>IDHP-1</i> *	TC 7	M
		<i>IDHP-2</i> *	TC 8	F
Lactate-déshydrogénase	1.1.1.27	<i>LDH-1</i> *	TC 8	M
		<i>LDH-2</i> *	TC 8	M
Leucine-aminopeptidase	*.*.*	<i>LAP</i> *	TC 7	M
Malate-déshydrogénase	1.1.1.37	<i>MDH-1</i> *	TC 8	M
		<i>MDH-2</i> *	TC 8	M
Malico-enzyme (NADP+)	1.1.1.40	<i>MEP-1</i> *	TC 8	M
		<i>MEP-2</i> *	TC 8	M
Phosphoglucomutase	5.4.2.2	<i>PGM-1</i> *	TC 8	F
		<i>PGM-2</i> *	TC 8	F, M
Phosphogluconate-déshydrogénase	1.1.1.44	<i>PGDH</i> *	TC 8	F
Octanol-déshydrogénase	1.1.1.73	<i>ODH</i> *	TBE 9	F
Superoxyde-dimutase	1.15.1.1	<i>SOD-1</i> *	TBE 8.6	F
		<i>SOD-2</i> *	TBE 8.6	F
Xanthine-déshydrogénase	1.2.1.37	<i>XDH</i> *	TBE 8.6	F

^A: Tampon d'électrophorèse utilisés : TBE 9, Tris/Borate/EDTA pH 9 (Ayala *et al.*, 1972) ; TBE 8.6, Tris/Borate/EDTA pH 8.6 avec dilution 1/10 de tampon du gel (Pasteur *et al.*, 1987) ; TC 7, Tris/Citrate pH 7 (Ayala *et al.*, 1972) ; TC 8, Tris/Citrate pH 8 (Pasteur *et al.*, 1987).

^B: F, foie ; M, muscle.

Analyse des données

Les données brutes obtenues par électrophorèse ont été soumises à des traitements statistiques permettant de calculer les fréquences alléliques aux loci polymorphes. À partir des fréquences alléliques, les divers paramètres de la diversité génétique telles que le pourcentage des loci polymorphes au seuil de 99% ($P_{0,01}$) et au seuil de 95% ($P_{0,05}$), l'hétérozygotie observée (H_o), l'hétérozygotie attendue non biaisée (H_{nb}) c'est-à-dire corrigée pour le biais d'échantillonnage selon Nei (1978) et le nombre moyen d'allèles par locus (A_m), ont été calculés. L'ensemble de ces traitements a été effectué à l'aide du logiciel GENETIX 4.05.2 (Belkhir *et al.*, 2004).

Les statistiques F définies par Wright (1951), principalement le F_{IS} et le F_{ST} , ont été calculées à l'aide d'estimateurs reposant sur une analyse de variances sur les fréquences alléliques, selon les formules de Weir et Cockerham (1984), respectivement estimées f et θ grâce à l'utilisation conjointe des logiciels GENETIX 4.05.2 (Belkhir *et al.*, 2004) et FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2001). Le F_{IS} mesure l'écart entre le taux d'hétérozygotes observé et le taux d'hétérozygotes attendu sous l'hypothèse de l'équilibre de Hardy-Weinberg (panmixie) dans une sous population (ici au sein des classes d'âge), alors que le F_{ST} mesure l'écart à l'équilibre lié à la structuration entre les classes d'âge c'est-à-dire

l'écart entre le taux d'hétérozygotes attendu sur l'ensemble des classes d'âge en panmixie et le taux d'hétérozygotes attendu dans chacune des classes d'âge. La significativité de la déviation à la panmixie au sein des groupes d'âge et des loci a été évaluée par test exact de Raymond et Rousset (1995a) en utilisant l'option numéro 1 du programme GENEPOP version 3.4 (Raymond et Rousset, 1995b). Les valeurs F_{ST} multiloci et par paire de classe d'âge ont été également calculées et les valeurs p de probabilité de rejeter l'hypothèse nulle d'absence de différenciation ont été estimées après 1000 permutations et application de la correction de Benjamini et Hochberg (1995).

Une Analyse en Composantes Principales (ACP) sur les fréquences alléliques par classes d'âge a été réalisée grâce au logiciel PCA-GEN version 1.2 (Goudet, 1999). Ce programme développe des nouvelles variables, dites «composantes principales» qui sont à la base d'une représentation graphique plane des variables initiales. Ainsi, il en résulte un traçage canonique bidimensionnel des deux premiers axes principaux de la représentation expliquant la majeure partie de la variance. Celle-ci permet donc de percevoir le niveau de structuration génétique lorsqu'elle existe. Les résultats de l'ACP ont été testés et obtenus après 1000 permutations.

Le degré de divergence génétique entre les classes d'âge a été estimé par la distance génétique standard (D_S) de Nei (1972). Les matrices de distances génétiques ont été obtenues par la procédure GENDIST du logiciel PHYLIP 3.65 (Felsenstein, 2004). A partir de cette matrice, un dendrogramme a été construit selon l'algorithme UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method of Arithmetic Averages*) grâce à la procédure NEIGHBOR du logiciel PHYLIP 3.65 (Felsenstein, 2004).

RESULTATS

Diversité génétique

Les quatorze systèmes enzymatiques résolus correspondant à 21 loci présumés, montrent une très bonne résolution et une reproductibilité satisfaisante. Seul les allèles de locus *GPI-2** n'ont pas pu être dénombrés à cause du profil enzymatique difficile à interpréter. Les fréquences alléliques (Tableau II) mettent en évidence 10 loci monomorphes (*G6PDH**, *G3PDH**, *LDH-1**, *LDH-2**, *LAP**, *MDH-2**, *ODH**, *SOD-1**, *SOD-2** and *XDH**). À partir des fréquences alléliques, les indices de polymorphisme intrapopulation ont été déterminés pour l'ensemble des classes d'âge estimées chez *Pagellus erythrinus* des côtes Nord de la Tunisie. Le Tableau III regroupe les paramètres de diversité génétique intrapopulation des classes d'âge étudiées.

Les indices de polymorphisme intrapopulation P , A_m , H_o et H_{nb} sont caractérisés par une faible hétérogénéité et varient faiblement entre les classes d'âge. Seul, les valeurs de l'hétérozygotie montrent une augmentation avec l'âge des individus (Fig. 3). Il semble que le taux d'hétérozygotie est lié à l'âge des poissons. L'hétérozygotie moyenne observée ($H_o = 0,042$) est faible et inférieure à l'hétérozygotie moyenne attendue non biaisée dans les conditions de Hardy-Weinberg ($H_{nb} = 0,048$) (Tableau III).

Équilibre panmictique

Les valeurs calculées de l'indice de fixation F_{IS} selon Weir et Cockerham (1984) par locus et par classe d'âge sont présentées dans le Tableau II. Les valeurs F_{IS} varient considérablement entre les loci et la valeur moyenne multiloci est significativement positive pour l'ensemble des classes d'âge (la moyenne de $F_{IS} = 0,116$, $p < 0,001$) exprimant une déviation à l'équilibre de Hardy-Weinberg dans le sens d'un déficit en hétérozygotes. Ce déficit est plus prononcé chez les classes d'âge femelles (Fig. 3A). Sur l'ensemble des classes d'âge, les valeurs F_{IS} calculées par locus s'avèrent significatives pour les loci *MDH-1**, *MEP-1**, *MEP-2**, *PGDH** et *PGM-1** (Tableau II).

Structure génétique

La stabilité génétique des fréquences alléliques a été évaluée entre les classes d'âge sur 5 années successives (de 2 à 6 ans) qui correspondent à l'âge

des poissons étudiés. Aucune hétérogénéité génétique significative n'a été trouvée entre les classes d'âge (moyenne $F_{ST} = 0,0004 \pm 0,0015$; $p = 0,395$). Les valeurs F_{ST} par paire de populations entre les classes d'âge sont également non significatives (Tableau IV). Les données de l'Analyse en Composantes Principales (ACP), basée sur les fréquences alléliques, présentent schématiquement la position de chaque classe d'âge suivant les deux premiers axes qui synthétisent 76,38% de la variance génétique totale, mais tous deux de façon non significative (Fig. 4). Les classes d'âge forment donc un ensemble génétique assez proche, ce qui confirme les valeurs de différenciation génétique F_{ST} non significatives (Tableau IV).

L'estimation du degré de divergence entre les 5 classes d'âge, est obtenue par calcul de la distance génétique D_S de Nei (1972) à partir des fréquences alléliques. La plus petite valeur ($D_S = 0,0001$) sépare les classes d'âge V et IV, alors que la plus grande valeur ($D_S = 0,0041$) est obtenue entre II et VI (Tableau IV). Le dendrogramme UPGMA construit (Fig. 5) en utilisant cette matrice de distance génétique montre que la plus vieille classe d'âge est la plus séparée des autres.

DISCUSSION

Les résultats de l'analyse génétique des quatorze systèmes enzymatiques montrent que *Pagellus erythrinus* maintient un faible polymorphisme pour les 21 loci considérés dans cette étude. L'analyse de la diversité génétique montre que la valeur de l'hétérozygotie attendue moyenne non biaisée (H_{nb}) chez *Pagellus erythrinus* est de l'ordre de 0,048. Cette valeur est comparable à celle trouvée par Ward *et al.* (1994) en se basant sur les résultats obtenus sur 113 espèces de poissons d'origine marine, d'eau douce et anadromes (hétérozygotie moyenne attendue $H_e = 0,063$) et même à celle trouvée par Reina *et al.* (1994) chez 6 espèces de la famille des Sparidés ($H_e = 0,046$).

Le test de l'équilibre de Hardy-Weinberg (HW), mis en évidence par l'estimateur F_{IS} de Weir et Cockerham (1984), a permis de déceler des valeurs positives significatives traduisant un déficit en hétérozygotes au niveau de l'échantillon pris dans sa totalité. Seul le groupe des mâles maintient un équilibre panmictique. Singh et Green (1984) ont proposé quatre hypothèses possibles pour expliquer ces déficits chez les mollusques : la consanguinité, l'effet Wahlund (spatial et/ou temporel), la sélection naturelle et la présence d'allèles nuls (la non-détection sur le gel de certains génotypes hétérozygotes). Ces hypothèses ont souvent été rapportées mais n'ont pas trouvé d'explication définitive.

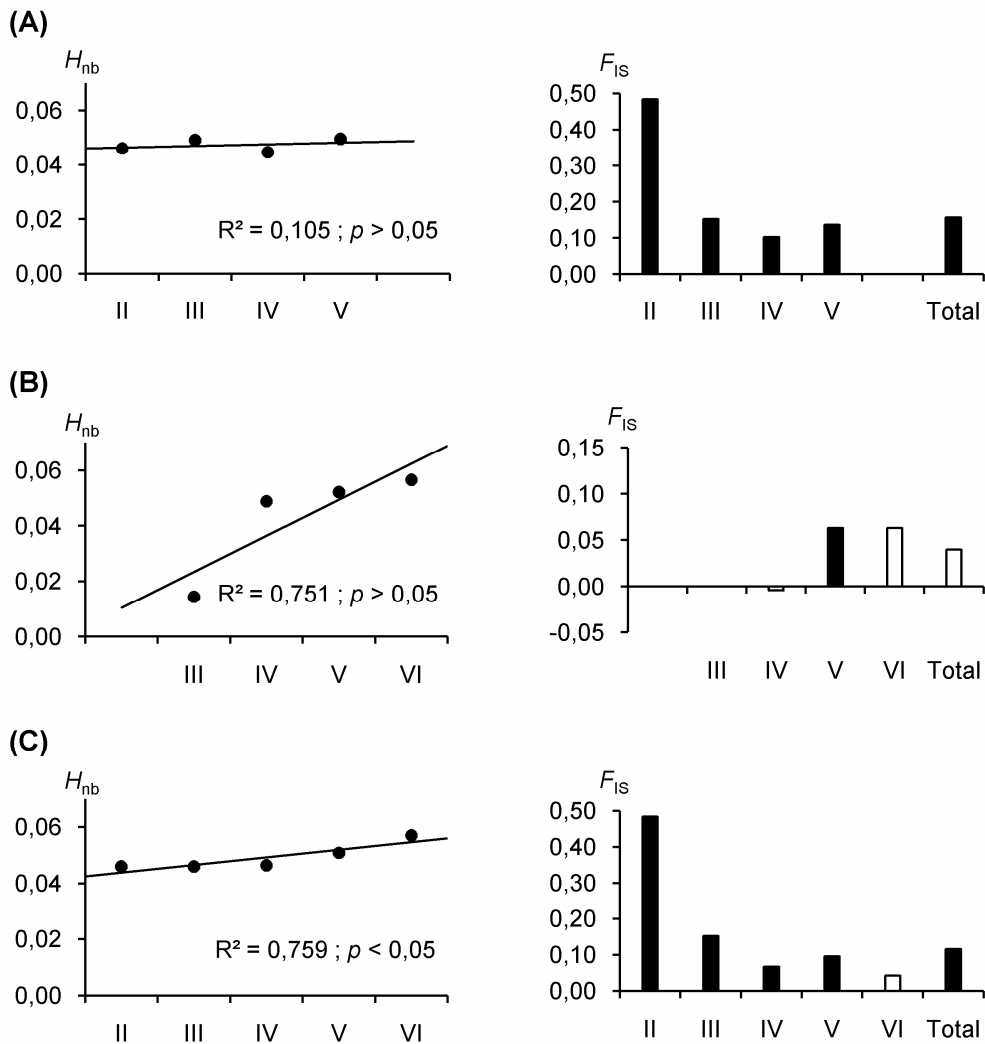


Figure 3 : Evolution de l'hétérozygotie attendue non biaisée (H_{nb}) multiloci selon Nei (1978) (graphiques à gauche) et distribution des déséquilibres en hétérozygotes (F_{IS}) multiloci (graphiques à droite) en fonction de sexe et des classes d'âge chez *Pagellus erythrinus* des côtes Nord de la Tunisie. (A), femelles ; (B), mâles et (C), les deux sexes. L'évolution de H_{nb} est analysée à l'aide d'une régression linéaire dont le coefficient de détermination (R^2) et la probabilité (p) pour que la pente soit nulle figurent dans chaque graphique. Les valeurs F_{IS} significatives (évaluées par test exact de Raymond et Rousset, 1995a) sont indiquées par les histogrammes noir (le seuil de significativité α est fixé à 0,05). Certaines classes d'âge ne figurent pas dans quelques graphiques. Elles ont été éliminées à cause de faible effectif.

L'interprétation possible du déficit en hétérozygotes dans nos échantillons pourrait être attribuée à la sélection contre les hétérozygotes et probablement à l'effet Wahlund temporel. L'hypothèse de la consanguinité exige que les croisements dans la population se produisent entre individus apparentés. Dans ce cas, les gènes hérités ont une chance de se trouver à l'état des homozygotes provoquant ainsi un déficit en hétérozygotes. Quand c'est le cas, le phénomène doit concerner l'ensemble du génome et donc nous devons observer un déficit en hétérozygotes pour tous les loci analysés. Dans notre étude, ce n'est pas le cas, car les loci *ADH**, *GPI-1**, *IDHP-1**, *IDHP-2**, *MDH-1** et *PGM-2** sont trouvés

en équilibre de HW pour toutes les classes d'âge. Cette hypothèse liée à la consanguinité était *a priori* peu probable car du point de vue éco-biologique les conditions de reproduction chez *Pagellus erythrinus* sont en faveur d'une rencontre au hasard des gamètes, qui se réalise dans un milieu marin ouvert. L'effet Wahlund temporel se traduit par une diminution du déficit en hétérozygotes dans les subdivisions temporels de l'échantillon (ici les classes d'âge) par rapport à l'échantillon total. Un tel effet pourrait être envisagé chez notre population puisque les valeurs F_{IS} chez les classes d'âge semblent diminuer avec l'âge et par rapport à l'échantillon pris dans sa totalité (Fig. 3C).

Tableau II : Fréquences alléliques, hétérozygoties observées (H_o) et valeurs F_{IS} estimées selon Weir et Cockerham (1984) des loci polymorphes pour les différents échantillons des côtes Nord tunisiennes groupés par âge ; n, taille de l'échantillon pour chaque locus.

Loci		II	III	IV	V	VI	F_{IS}
<i>ADH*</i>	n	10	59	73	58	18	
	070		0,008				
	100	0,900	0,984	0,979	0,983	1	
	130	0,100	0,008	0,021	0,017		
	H_o	0	0,033	0,041	0,034	0	
	F_{IS}	1	-0,004	-0,014	-0,009	-	0,188
<i>GPI-1*</i>	n	14	82	77	59	18	
	080				0,008		
	090		0,061	0,052	0,077	0,083	
	100	1	0,933	0,942	0,898	0,917	
	115		0,006	0,006	0,017		
	H_o	0	0,109	0,116	0,203	0,166	
	F_{IS}	-	0,134	-0,049	-0,080	-0,063	-0,001
<i>IDHP-1*</i>	n	14	74	71	58	18	
	100	0,929	0,912	0,845	0,871	0,806	
	122	0,071	0,088	0,155	0,129	0,194	
	H_o	0,142	0,148	0,281	0,258	0,277	
	F_{IS}	-0,040	0,079	-0,069	-0,140	0,141	-0,035
<i>IDHP-2*</i>	n	11	69	75	58	18	
	100	1	1	0,987	1	1	
	130			0,013			
	H_o	0	0	0,026	0	0	
	F_{IS}	-	-	-0,007	-	-	-0,004
<i>MDH-1*</i>	n	14	82	77	59	18	
	075	0,071	0,006	0,006	0,008		
	100	0,929	0,988	0,994	0,992	1	
	126		0,006				
	H_o	0	0,024	0,013	0,016	0	
	F_{IS}	1*	-0,003	-	-	-	0,342*
<i>MEP-1*</i>	n	14	81	77	59	18	
	096			0,013	0,017		
	100	1	1	0,987	0,983	1	
	H_o	0	0	0	0	0	
	F_{IS}	-	-	1**	1**	-	1,000***
<i>MEP-2*</i>	n	14	82	77	59	18	
	100	1	0,988	0,994	0,984	1	
	103		0,012	0,006	0,008		
	110				0,008		
	H_o	0	0	0,013	0,033	0	
	F_{IS}	-	1**	-	-0,004	-	0,429**
<i>PGDH*</i>	n	10	60	73	58	18	
	100	0,900	0,884	0,946	0,922	0,944	
	107	0,050	0,058	0,027	0,034		
	115	0,050	0,058	0,027	0,044	0,056	
	H_o	0,200	0,166	0,082	0,120	0,111	
	F_{IS}	-0,029	0,225	0,224	0,182	-0,030	0,194**
<i>PGM-1*</i>	n	14	77	71	41	13	
	090	0,036	0,007	0,007	0,024	0,115	
	095	0,107	0,071	0,049	0,049	0,038	
	100	0,857	0,805	0,817	0,829	0,654	
	105		0,110	0,120	0,098	0,155	
	110		0,007	0,007		0,038	
	H_o	0,142	0,298	0,281	0,219	0,538	

F_{IS}		0,464	0,113 *	0,115	0,279 *	0,029	0,144 **
n		14	82	76	59	18	
PGM-2*	100	1	1	0,993	0,983	1	
	160			0,007	0,017		
H_o		0	0	0,013	0,033	0	
F_{IS}		-	-	-	-0,009	-	-0,007

Écarts significatives : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$ évalués par tests exact de Raymond et Rousset (1995a).

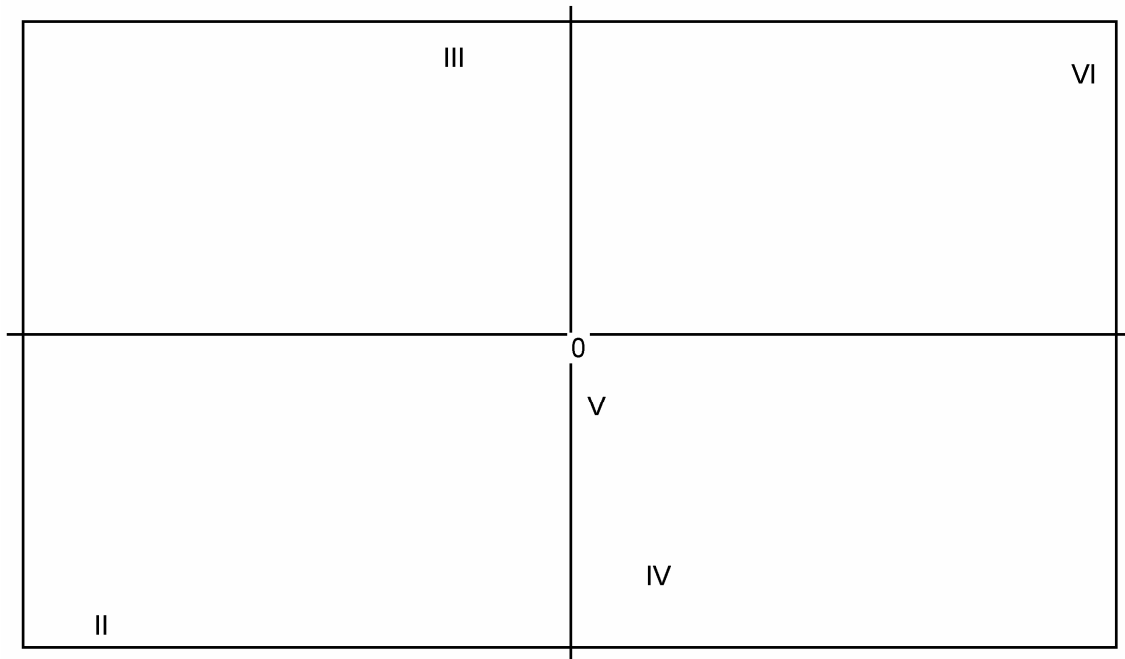


Figure 4 : Analyse en Composantes Principales basée sur les fréquences alléliques par population chez *Pagellus erythrinus* des côtes Nord de la Tunisie groupée par âge et testée sur 1000 permutations. L'axe 1 synthétise 55,72% de la variance ($p = 0,352$) et l'axe 2 synthétise 20,66% ($p = 0,841$).

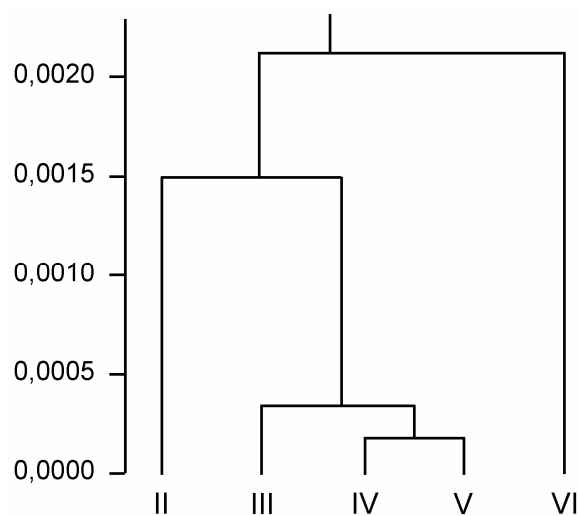


Figure 5 : Dendrogramme établi par la méthode algorithmique UPGMA à partir de distance génétique standard de Nei (1972) à 20 loci enzymatiques entre les échantillons de *Pagellus erythrinus* des côtes Nord de la Tunisie groupés par âge.

Tableau III : Description de la diversité génétique des échantillons de *Pagellus erythrinus* des côtes Nord de la Tunisie ; N, taille moyenne de l'échantillon par locus ; A_m , nombre moyen d'allèles par locus ; $P_{0,01}$, pourcentage des loci polymorphes au seuil de 99% ; $P_{0,05}$, pourcentage des loci polymorphes au seuil de 95% ; H_o , hétérozygotie observée et H_{nb} , hétérozygotie attendue non biaisée selon Nei (1978) par classe d'âge. Les erreurs standards sont présentées entre parenthèses.

Classes d'âge	N	A_m	$P_{0,01}$	$P_{0,05}$	H_o	H_{nb}
II	13,45	1,35	25,0	25,0	0,024 (0,060)	0,046 (0,085)
III	78,40	1,70	35,0	20,0	0,039 (0,080)	0,046 (0,092)
VI	75,85	1,75	35,0	20,0	0,043 (0,087)	0,046 (0,090)
V	57,60	1,75	40,0	20,0	0,046 (0,083)	0,050 (0,090)
VI	17,75	1,35	20,0	20,0	0,054 (0,135)	0,057 (0,141)
Total	244,05	1,95	30,0	20,0	0,042 (0,083)	0,048 (0,091)

Tableau IV : Matrice de distance génétique standard de Nei (1972) (au dessus de la diagonale) et des valeurs F_{ST} moyennes selon Weir et Cockerham (1984) (au dessous de la diagonale) par paires de populations entre les différents échantillons de *Pagellus erythrinus* groupés par âge.

	II	III	IV	V	VI
II	–	0,0013	0,0017	0,0015	0,0041
III	-0,0013	–	0,0004	0,0002	0,0018
IV	0,0095	0,0014	–	0,0001	0,0012
V	0,0025	-0,0040	-0,0056	–	0,0015
VI	0,0335	0,0150	0,0047	0,0046	–

NB : Les Valeurs F_{ST} sont non significatives avant l'application de la correction de Benjamini et Hochberg (1995).

La variation significative des fréquences alléliques n'a pas été détectée entre les différentes classes d'âge de nos échantillons. Des résultats similaires ont été rapportés chez quelques espèces marines (Gold *et al.*, 1993 ; Gold *et al.*, 1999 ; Potvin et Bernatchez, 2001 ; Hansen *et al.*, 2002 ; Hoarau *et al.*, 2002 ; Nielsen *et al.*, 2007). Ces études ont montré que les fréquences alléliques et génotypiques des échantillons analysés sont relativement stables au cours du temps, malgré l'utilisation des diverses techniques d'analyse génétique. L'hétérogénéité des fréquences alléliques et génotypiques a été, également, observée entre les classes d'âge et les cohortes chez les organismes marins (Lundy *et al.*, 2000 ; Chapman *et al.*, 2002 ; Heath *et al.*, 2002 ; Planes et Lenfant, 2002 ; Karlsson et Mork, 2003 ; Borell *et al.*, 2007 ; Papetti *et al.*, 2007). Les explications plausibles attribuées à ces instabilités génétiques temporelles ont été la dérive génétique, la sélection et l'instabilité environnementale ou leur combinaison. D'autres auteurs ont proposé une hypothèse en relation avec le cycle vital de leurs échantillons. Ils ont proposé que cette différenciation génétique entre les classes d'âge, ou cohortes, pourrait être expliquée par la haute variance dans le succès reproducteur des individus (Hedgecock, 1994b ; Li et Hedgecock, 1998 ; Boudry *et al.*, 2002 ; Planes et Lenfant, 2002), surtout lorsque cette différenciation est observée au niveau des classes d'âge les plus âgées. Hedgecock (1994b) a

évoqué cette hypothèse suite à l'observation de la faible variabilité génétique au niveau des jeunes classes d'âge par rapport à la population adulte. Il a expliqué ce phénomène par la dérive génétique étant donné que les jeunes survivants recrutés sont issus d'une petite fraction de la population adulte. Ceci peut être envisagé dans nos échantillons, malgré l'absence de la structuration entre les classes d'âge. En effet, la séparation de la plus vieille classe d'âge sur le dendrogramme (Fig. 5) ainsi que l'augmentation de la diversité génétique (Fig. 3C) avec l'âge ne font que supporter cette hypothèse. L'analyse génétique d'autres classes d'âge adultes et les larves chez *Pagellus erythrinus* et l'utilisation des marqueurs moléculaires (RAPD, AFLP, RFLP, ...) peuvent sans doute apporter des arguments qui peuvent soutenir ou contredire cette hypothèse.

CONCLUSION

Les résultats de la présente étude ont indiqué que les échantillons de *Pagellus erythrinus* collectés des côtes Nord de la Tunisie maintiennent une faible diversité génétique aux loci considérés. Cette diversité est presque comparable à celles obtenues chez d'autres espèces ichthyiques. L'analyse de la diversité génétique au cours du temps a montré, d'une part, une stabilité génétique au sein des groupes d'âge, au moins pour les cinq premières années qui

suivent le recrutement, et d'autre part, une sorte de sélection unidirectionnelle en faveur des hétérozygotes après la phase du recrutement. Ce résultat supporte l'hypothèse de la haute variance dans le succès reproducteur des parents.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier les deux réviseurs pour leurs commentaires apportés au manuscrit. Ce travail s'inscrit dans le cadre d'une thèse de doctorat en Sciences Halieutiques de l'INAT, financé par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique et l'Institution de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur Agricole.

BIBLIOGRAPHIE

- Ayala, F.J., Powell, J.R., Tracey, M.L., Mourao, C.A. et Pérez-Salas, S. 1972. Enzyme variability in the *Drosophila willistoni* group. IV. genic variation in natural populations of *Drosophila willistoni*. *Genetics*, **70**: 113–139.
- Bagenal, T.B. et Tesch, F.W. 1978. Age and growth. In: Bagenal, T.B. (Editor), *Methods for assessment of fish production in fresh waters*. Third edition. *Blackwell Scientific Publications*, Oxford, UK, pp101–136.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Goudet, J. et Bonhomme, F. 2004. GENETIX, Version 4.05. 2. Logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Benjamini, Y. et Hochberg, Y. 1995. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J. Roy. Stat. Soc. B*, **57**: 289–300.
- Borrell, Y.J., Arenal, F., Mbemba, Z.M., Santana, O., Díaz-Fernández, R., Vázquez, E., Blanco, G., Sánchez, J.A. et Espinosa, G. 2007. Spatial and temporal genetic analysis of the Cuban white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) schmitti*. *Aquaculture*, **272S1**: S125–S138.
- Boudry, P., Collet, B., Cornette, F., Hervouet, V. et Bonhomme, F. 2002. High variance in reproductive success of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg) revealed by microsatellite-based parentage analysis of multifactorial crosses. *Aquaculture*, **204**: 283–296.
- Brown, B.L., Epifanio, J.M., Smouse, P.E. et Kobak, C.J. 1996. Temporal stability of mtDNA haplotype frequencies in American shad stocks: to pool or not pool across years? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **53**: 2274–2283.
- Buxton, C.D. et Garratt, P.A. 1990. Alternative reproductive styles in seabreams (Pisces: Sparidae). *Environ. Biol. Fish.*, **28**: 113–124.
- Chapman, R.W., Ball, A.O. et Mash, L.R. 2002. Spatial homogeneity and temporal heterogeneity of red drum (*Sciaenops ocellatus*) microsatellites: effective population sizes and management implications. *Mar. Biotechnol.*, **4**: 589–603.
- Fassatoui, C., Mdelgi, E. et Romdhane, M.S. 2008. Polymorphisme allozymique et hétérozygotie chez le pageot commun, *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, 1758) (Sparidae). *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **133**: 239–244.
- Felsenstein, J. 2004. PHYLIP phylogeny inference package, version 3.6. Department of Genome Sciences and Department of Biology, University of Washington, Box 357730, Seattle, WA 98195–7730, USA.
- Fischer, W., Schneider, M. et Bauchot, M.-L. 1987. Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche (Révision 1). Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. Vol II. Vertébrés. FAO et Commission des Communautés Européennes, Rome, 2, pp761–1530.
- Gold, J.R., Richardson, L.R. et Turner, T.F. 1999. Temporal stability and spatial divergence of mitochondrial DNA haplotype frequencies in red drum (*Sciaenops ocellatus*) from coastal regions of the western Atlantic Ocean and Gulf of Mexico. *Mar. Biol.*, **133**: 593–602.
- Gold, J.R., Richardson, L.R., King, T.L. et Matlock, G.C. 1993. Temporal stability of nuclear gene (allozyme) and mitochondrial DNA genotypes among red drums from the gulf of Mexico. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **122**: 659–668.
- Goudet, J. 1999. PCA-GEN (version 1.2) a program to perform Principal Component Analysis (PCA) on gene frequency data. Institute of Ecology, University of Lausanne, Switzerland. Available from <http://www2.unil.ch/popgen/software/pcagen.htm>.
- Goudet, J. 2001. FSTAT (version 2.9.3.) a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Institute of Ecology, University of Lausanne, Switzerland. Available from <http://www2.unil.ch/popgen/software/fstat.htm>.
- Hansen, M.M., Ruzzante, D.E., Nielsen, E.E., Bekkevold, D. et Mensberg, K.-L.D. 2002. Long-term effective population sizes, temporal stability of genetic composition and potential for local adaptation in anadromous brown trout (*Salmo trutta*) populations. *Mol. Ecol.*, **11**: 2523–2535.

- Heath, D.D., Busch, C., Kelly, J. et Atagi, D.Y. 2002. Temporal change in genetic structure and effective population size in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Mol. Ecol.*, **11**: 197–214.
- Hedgecock, D. 1994a. Temporal and spatial genetic structure of marine animal populations in the California current. *Cal. C. O. F. I. Rep.*, **35**: 73–81.
- Hedgecock, D. 1994b. Does variance in reproductive success limit effective population size of marine organisms? In: Beaumont, A. (Editor), Genetics and evolution of aquatic organisms. *Chapman and Hall*, London, UK, pp122–134.
- Hoarau, G., Rijnsdorp, A.D., Van Der Veer, H.W., Stam, W.T. et Olsen, J. 2002. Population structure of plaice (*Pleuronectes platessa* L.) in northern Europe: microsatellites revealed large-scale spatial and temporal homogeneity. *Mol. Ecol.*, **11**: 1165–1176.
- Karlsson, S. et Mork, J. 2003. Selection-induced variation at the pantophysin locus (*PanI*) in a Norwegian fjord population of cod (*Gadus morhua* L.). *Mol. Ecol.*, **12**: 3265–3274.
- Klaoudatos, S.D., Iakovopoulos, G. et Klaoudatos, D.S. 2004. *Pagellus erythrinus* (common pandora): a promising candidate species for enlarging the diversity of aquaculture production. *Aquacult. Int.*, **12**: 299–320.
- Kousoulaki, K., Miliou, E., Apostolopoulou, M. et Alexis, M.N. 2007. Effect of feeding intensity and feed composition on nutrient digestibility and production performance of common pandora (*Pagellus erythrinus*) in sea cages. *Aquaculture*, **272**: 514–527.
- Li, G. et Hedgecock, D. 1998. Genetic heterogeneity, detected by PCR-SSCP, among samples of larval pacific oysters (*Crassostrea gigas*) supports the hypothesis of large variance in reproductive success. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **55**: 1025–1033.
- Lundy, C.J., Rico, C. et Hewitt, G.M. 2000. Temporal and spatial genetic variation in spawning grounds of European hake (*Merluccius merluccius*) in the Bay of Biscay. *Mol. Ecol.*, **9**: 2067–2079.
- Micale, V., Garaffo, M., Genovese, L., Spedicato, M.T. et Muglia, U. 2006. The ontogeny of the alimentary tract during larval development in common pandora *Pagellus erythrinus* L. *Aquaculture*, **251**: 354–365.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Natural.*, **106**: 283–292.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**: 583–590.
- Nielsen, E.E., MacKenzie, B.R., Magnussen, E. et Meldrup, D. 2007. Historical analysis of *Pan I* in Atlantic cod (*Gadus morhua*): temporal stability of allele frequencies in the southeastern part of the species distribution. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **64**: 1448–1455.
- Papetti, C., Susana, E., La Mesa, M., Kock, K.-H., Patarnello, T. et Zane, L. 2007. Microsatellite analysis reveals genetic differentiation between year-classes in the icefish *Chaenocephalus aceratus* at South Shetlands and Elephant Island. *Polar Biol.*, **30**: 1605–1613.
- Pasteur, N., Pasteur, G., Bonhomme, F., Catalan, J. et Britton-Davidian, J. 1987. Manuel de génétique par électrophorèses des protéines. *Collection Techniques et Documentation*. Lavoisier, Paris, France, 217pp.
- Planes, S. et Lenfant, P. 2002. Temporal change in the genetic structure between and within cohorts of a marine fish, *Diplodus sargus*, induced by a large variance in individual reproductive success. *Mol. Ecol.*, **11**: 1515–1524.
- Potvin, C. et Bernatchez, L. 2001. Lacustrine spatial distribution of landlocked Atlantic salmon populations assessed across generations by multilocus individual assignment and mixed-stock analyses. *Mol. Ecol.*, **10**: 2375–2388.
- Raymond, M. et Rousset, F. 1995a. An exact test for population differentiation. *Evolution*, **49**: 1280–1283.
- Raymond, M. et Rousset, F. 1995b. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.*, **86**: 248–249.
- Reina, J., Martinez, G., Amores, A. et Alvarez, M.C. 1994. Interspecific genetic differentiation in Western Mediterranean sparid fish. *Aquaculture*, **125**: 47–57.
- Ruzzante, D.E., Taggart, C.T., Cook, D. et Goddard, S. 1997. Genetic differentiation between inshore and offshore Atlantic cod (*Gadus morhua*) off Newfoundland: a test and evidence of temporal stability. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **54**: 2700–2708.
- Shaklee, J.B., Allendorf, F.W., Morizot, D.C. et Whitt, G.S. 1990. Gene nomenclature for protein-coding loci in fish. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **119**: 2–15.
- Singh, S.M. et Green, R.H. 1984. Excess of allozyme homozygosity in marine molluscs and its possible biological significance. *Malacologia*, **25**: 569–581.
- Spedicato, M.T., Greco, S., Sophronidis, K., Lembo, G., Giordano, D. et Argyri, A. 2002. Geographical distribution, abundance and some population characteristics of the species of the genus *Pagellus* (Osteichthyes: Perciformes) in different areas of the Mediterranean. *Sci. Mar.*, **66** (Suppl 2): 65–82.

- Ward, R.D. 2000. Genetics in fisheries management. *Hydrobiologia*, **420**: 191–201.
- Ward, R.D., Woodwark, M. et Skibinski, D.O.F. 1994. A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater and anadromous fishes. *J. Fish Biol.*, **44**: 213–232.
- Weir, B.S. et Cockerham, C.C. 1984. Estimating F -statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**: 1358–1370.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugenics*, **15**: 322–354.