

## DIFFERENCIATION GÉNÉTIQUE DE QUELQUES POPULATIONS TUNISIENNES D'*Artemia* LEACH, 1819 (CRUSTACÉ, BRANCHIOPODE)

Adnène GHLALA<sup>1\*</sup> et F. CHARFI -CHEIKHROUHA

Unité de Recherche de Biologie Animale et Systématique Evolutive. Faculté des Sciences de Tunis,  
Campus universitaire, 2092 Manar II, Tunisie.

\* ghlala@yahoo.fr

### ملخص

التنوع الوراثي لبعض المجموعات الارتيميا بالبلاد التونسية : لقد تمت دراسة التنوع الانضيبي لخمس مجموعات من نوع الأرتيميا بهدف التعرف على تنوع المخزون الوراثي لهذا النوع بالجمهورية التونسية و تقدير الإختلاف الجيني بين المجموعات و داخل المجموعة الواحدة. و يرتكز هذا العمل على تحليل خمسة أنزيمات و قد مكنا من تحديد 11 لوكنس منهم 7 متعددي الأشكال وهم ، MDH2 ، APH ، IDH1، PEP4، PEP3.؛ و يعتبر اللوكسان IDH2، MDH1 مميزات بين المجموعات.

أما بالنسبة إلى مؤشرات التنوع البيولوجي فهي كالاتي: الإختلاف المشجي الملاحظ من 0.051 إلى 0.364، نسبة التعدد الشكلي من 36.4 % إلى 45.5 % و متوسط عدد المدغوش في اللوكس الواحد من 1,3 إلى 1,7. حيث يبين مؤشر المسافة الجينية الذي يمتد بين 0.087 و 1.105 أن مجموعة سبخة السيجومي تبعد جينيا عن بقية المجموعات الأخرى.  
الكلمات المفاتيح : ارتيميا ، التنوع الوراثي ، السباخ.

### RESUME

L'analyse du polymorphisme isoenzymatique de 5 populations d'*Artemia* de Tunisie a été entreprise afin d'évaluer les ressources génétiques de cette espèce et d'estimer la variabilité génétique intra et interpopulationnelle. Cette analyse a été effectuée sur la base de 5 systèmes enzymatiques et 11 loci dont 7 sont polymorphes : PEP3, PEP4, IDH1, IDH2, MDH1, MDH2 et APH. Parmi ces loci, l'IDH2 et la MDH1 peuvent être considérés comme des loci diagnostiques. Les paramètres de diversité génétique estimés pour l'hétérozygotie observée, le taux de polymorphisme et le nombre moyen d'allèles par locus sont de 0.051 à 0.364, de 36.4% à 45.5% et de 1.3 à 1.7 respectivement. Les valeurs des distances génétiques de Nei (1978), calculées à partir des fréquences alléliques, varient de 0.087 à 1.105 indiquant une nette divergence de la population de sebkhet Sijoumi.

**Mots clés :** *Artemia*, polymorphisme génétique, saline, Sebkha.

### ABSTRACT

**Genetic differentiation of some Tunisian populations of *Artemia* Leach, 1819 (Crustacea, Branchiopoda):** The allozyme variation of 5 Tunisian *Artemia* populations was performed to assess the genetic resources of the species and to estimate the intra and interpopulation genetic variability. Five enzymes encoded by 11 loci were analysed; seven of them are polymorphic: PEP3, PEP4, IDH1, IDH2, MDH1, MDH2 and APH. Among these loci, IDH2 and MDH1 may be considered as diagnostic ones. The estimated genetic parameters are from 0.051 to 0.364, from 36.4% to 45.5% and from 1.3 to 1.7 respectively for observed heterozygosity, the percentage of polymorphic loci and the number of alleles per locus. The Nei's genetic distance based on allelic frequency, ranging from 0.087 to 1.105, showed a clear divergence of the sebkhet Sijoumi population.

**Keys words:** *Artemia*, Salt Lake, Genetic polymorphism

### INTRODUCTION

Depuis la découverte d'*Artemia* par Seurat (1921) dans la sebkha de l'Ariana, plusieurs études ont ciblé la caractérisation des souches d'*Artemia* tunisiennes sur le plan quantitatif (Ben Abdelkader, 1985 ; Turki, 1986; Romdhane, 1992 ; Aloui, 1992 ; 2003) et qualitatif (Bowen et Sterling, 1976; Barigozzi, 1980; Van Baller *et al.*, 1987; Ghlala et Charfi, 2003).

Les investigations, faites par Van Baller *et al.* (1987) en Tunisie, affirment la présence uniquement du groupe bisexué attribué à l'espèce *A. tunisiana*. Depuis la caractérisation génétique de l'espèce *Artemia tunisiana* par Bowen et Sterling (1978), peu de travaux ont porté sur l'aspect génétique de cette espèce. Les souches, ayant

fait l'objet de ces études, proviennent des salines de Sfax et de Mégrine; elles sont stockées à la banque de cystes du laboratoire d'aquaculture « *Artemia* Reference Center » en Belgique. D'autres travaux (Abreu-Grobois et Beardmore, 1980 ; Pilla et Beardmore, 1994 ; Triantaphyllidis *et al.*, 1997) se sont référés uniquement à ces deux souches.

Nous avons recensé, dans une étude antérieure (Ghlala et Charfi, 2003), l'existence d'une souche intéressante d'*Artemia* dans le site de sebkhet Sijoumi, qui pourrait être attribuée à l'espèce *Artemia parthenogenetica*.

Dans le présent travail, nous évaluons la diversité génétique intra et interpopulationnelle de 4 populations bisexuées d'*Artemia tunisiana* (Bowen, 1965), d'une part et de la population de sebkhet Sijoumi, d'autre part par le

biais de l'étude du polymorphisme de 5 systèmes enzymatiques.

## MATERIEL ET METHODES

### Sites d'échantillonnage

Les échantillons, ayant fait l'objet de cette étude, proviennent de cinq sites répartis sur toute la Tunisie (Fig 1). Les quatre stations, sebkhet Sijoumi (10°7'38''E, 36°45'36''N), sebkhet El Adhibet (11°24'56''E, 33°6'15''N) Chott El Jerid (8°27'03''E, 33°56'21''N) et sebkhet El Korsia (9°51'05''E, 36°31'10''N) sont des milieux athalassohalins alimentés par les oueds et les eaux de pluie ; seule la saline de Sfax (10°45'03''E, 34°42'56''N) communique directement avec la mer.

### Conditions de culture

Nous avons effectué des élevages au laboratoire d'individus adultes ramenés de la nature de plusieurs populations dont celle de sebkhet Sijoumi et sebkhet El Adhibet qui sont étudiées pour la première fois. L'élevage au laboratoire est effectué dans des aquariums de dimensions 40cm/25cm/30cm. Les adultes, prélevés dans la nature pendant la saison hivernale ou estivale, sont maintenus en élevage dans des conditions contrôlées de température  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , de salinité de 60-80 g/l, d'oxygénation 6 l/min et sous une photopériode naturelle.

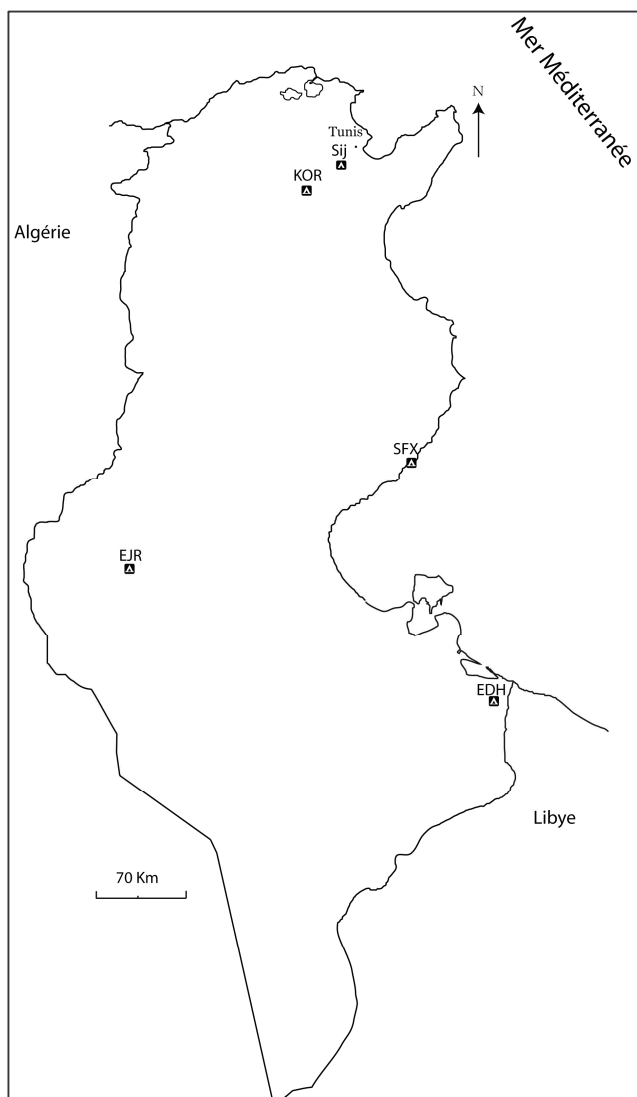


Figure 1. Localisation des stations d'échantillonnage des populations d'*Artemia*. **Sij** : Sebkhet Sijoumi ; **KOR** : Sebkhet Korsia ; **SFX** : Saline de Sfax ; **EJR** : Chott El Jerid ; **EDH** : Sebkhet El Adhibet

### Electrophorèse

L'échantillon correspond à un individu broyé dans une goutte d'eau distillée déposée dans un verre de montre placé sur un bac de glace ; les femelles, avant d'être broyées, sont débarrassées de leur sac ovigère. Les électrophorèses ont été réalisées sur des gels horizontaux d'amidon à 12%, à un voltage constant de 80 V et à une température de 4°C pour éviter la dénaturation de l'extrait enzymatique.

La durée de migration est de 8 à 9 heures. La composition des tampons de migration et du tampon du gel est donnée par Selander *et al.* (1971).

Cinq systèmes enzymatiques ont été retenus : la Glutamate oxaloacétate transaminase (GOT ; EC 2.6.1.1), la Peptidase (PEP ; EC 3.4.13.11.), l'Isocitrate déshydrogénase (IDH ; EC.1.1.1.42), la Malate déshydrogénase (MDH ; EC.1.1.1.37) et la Phosphatase alcaline (APH ; EC. 3.1.3.1). La composition des solutions de révélation des PEP, GOT et IDH est celle de Shaw et Prasad (1971), Selander *et al.* (1971) et Ayala *et al.* (1971) que nous avons adaptée à notre matériel biologique. Cependant, pour les APH et la MDH, nous avons employé les compositions décrites par Shaw et Prasad (1970) et Lauzier (1988).

Pour chaque locus, les divers niveaux de migration allozymique sont désignés en fonction de leur mobilité électrophorétique décroissante. Par exemple, l'allèle le plus anodique est noté A, celui qui vient après est désigné par la lettre B et ainsi de suite.

### Analyse statistique

Le traitement statistique des données obtenues a été effectué à l'aide du programme Biosys-1 (Swofford et Selander, 1981). Ce qui a permis d'estimer différents paramètres tels que le nombre moyen d'individus par locus, le nombre moyen d'allèles par locus, le pourcentage de loci polymorphes, l'hétérozygotie moyenne observée et l'hétérozygotie moyenne attendue dans les conditions de Hardy-Weinberg. La matrice des similarités génétiques entre les populations a été obtenue à partir des identités et des distances génétiques non biaisées de Nei (1978). Cette matrice a servi pour la construction du dendrogramme des distances génétiques de Nei par la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method Analysis) établie par Sneath et Sokal (1973).

## RESULTATS

### Analyse iso-enzymatique

Plusieurs systèmes enzymatiques ont été testés ; seuls les systèmes reproductibles et interprétables ont été retenus. Le tableau I rassemble les fréquences alléliques calculées au niveau de 11 loci chez 4 populations d'*A. tunisiana* et la population d'*Artemia parthenogenetica* de sebkhet Sijoumi, ainsi que le taux d'hétérozygotie au niveau des loci polymorphes. La structure des enzymes est monomérique pour la PEP, la GOT et l'APH et dimérique pour la MDH. Parmi les systèmes étudiés, seul le locus qui gouverne l'activité de la Glutamate oxaloacétate transaminase (GOT) est monomorphe. Les

profils obtenus pour la GOT montrent deux zones d'activité représentée chacune par une seule bande occupant deux niveaux de migration. La plus anodique est commune à tous les individus des différentes populations de la saline de Sfax (Sfx), sebkhet Korsia (KOR), Chott El Jerid (EJR) et sebkhet El Adhibet (EDH) ; la seconde, de mobilité relative plus faible, caractérise la population de sebkhet Sijoumi. Selon ces résultats, la GOT est une enzyme particulièrement intéressante puisque les 2 allèles révélés au niveau des 2 loci (GOT1 et GOT2) constituent un marqueur biochimique permettant de caractériser génétiquement la population de sebkhet Sijoumi ; ces allèles sont considérés, au niveau de chaque locus, comme des allèles alternatifs.

Pour la Peptidase, nous avons mis en évidence 4 loci différents dont deux monomorphes et deux polymorphes, PEP4 et PEP3. Ce dernier est biallélique chez tous les individus de la population de Sijoumi et triallélique chez tous les individus des autres populations étudiées.

La présence de 2 zones d'activité indique que l'IDH est sous la dépendance de 2 loci ; l'IDH1 est monomorphe dans les 2 populations de Sfax et Chott El Jerid, alors que l'IDH2 ne l'est que dans la population EJR.

### Variabilité génétique

La variabilité génétique, exprimée par le nombre moyen d'allèles par locus, le taux de polymorphisme et l'hétérozygotie observée pour chaque population, est reportée dans le tableau II. Le taux de polymorphisme au seuil de 1% est de 18,2% pour la population EJR, 36,4% pour les populations SFX et SIJ. Les populations EDH et KOR présentent le taux le plus élevé (45,5%). Le nombre moyen d'allèles par locus est compris entre  $1,3 \pm 0,2$  et  $1,7 \pm 0,3$ . Le nombre le plus élevé caractérise la population EDH et le plus faible la population EJR. L'hétérozygotie moyenne observée oscille entre  $0,051 \pm 0,022$  et  $0,364 \pm 0,152$ . Le taux le plus élevé est révélé au niveau de la population de sebkhet Sijoumi. L'hétérozygotie observée pour le locus PEP3 varie entre 0,11 et 0,40 chez les populations bisexuées et atteint la valeur de 1 chez la population de sebkhet Sijoumi où tous les individus analysés sont hétérozygotes. En revanche, le locus APH n'est polymorphe qu'au niveau de la population de sebkhet El Adhibet (EDH).

Pour la MDH1, l'homozygote BB n'est présent qu'au niveau de la population de Chott El Jerid, les individus issus de toutes les autres populations étant tous des homozygotes AA.

Le taux d'hétérozygotie moyenne observée pour *A. tunisiana* est toujours inférieur à celui de l'hétérozygotie moyenne attendue  $H_a$  dans les conditions de l'équilibre de Hardy-Weinberg. Il y a donc un déficit en hétérozygotes dans les 4 populations analysées (Tab II). En revanche, la population de sebkhet Sijoumi montre plutôt un excès en hétérozygotes. Le plus faible taux d'hétérozygotie est observé au niveau de la population de SFX ( $H_a = 0,150$  et  $H_o = 0,069$ ) ; il est dû essentiellement aux loci, MDH2, PEP3 et IDH2. Ces loci présentent, en effet, une déviation hautement significative par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg. La population KOR

Tableau I: Fréquences alléliques et hétérozygoties calculées au niveau de 11 loci chez 5 populations d'*Artemia*.  
 : Estimation non biaisée (Nei, 1978) Ha : Hétérozygotie moyenne attendue par locus dans les conditions de Hardy-Weinberg Ho : Hétérozygotie moyenne observée par locus

Populations						
Locus		KOR	SFX	EJR	EDH	SIJ
PEP-1	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
PEP-2	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
PEP-3	A	0.313	0.296	0.200	0.278	0.500
	B	0.500	0.593	0.200	0.500	0.500
	C	0.187	0.111	0.600	0.222	0.000
<b>Ho</b>		<b>0.627</b>	<b>0.559</b>	<b>0.622</b>	<b>0.660</b>	<b>1.000</b>
<b>Ha</b>		<b>0.313</b>	<b>0.296</b>	<b>0.400</b>	<b>0.111</b>	<b>1.000</b>
PEP-4	A	0.217	0.167	1.000	1.000	1.000
	B	0.783	0.833	0.000	0.000	0.000
<b>Ho</b>		<b>0.348</b>	<b>0.284</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Ha</b>		<b>0.174</b>	<b>0.167</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
IDH-1	A	0.857	1.000	1.000	0.917	0.000
	B	0.143	0.000	0.000	0.063	0.000
	C	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000
	D	0.000	0.000	0.000	0.000	0.500
	E	0.000	0.000	0.000	0.000	0.500
<b>Ha</b>		<b>0.264</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0.159</b>	<b>0.553</b>
<b>Ho</b>		<b>0.286</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0.042</b>	<b>1.000</b>
IDH-2	A	0.571	0.776	1.000	0.979	0.500
	B	0.429	0.138	0.000	0.021	0.000
	C	0.000	0.069	0.000	0.000	0.000
	D	0.000	0.017	0.000	0.000	0.500
<b>Ha</b>		<b>0.508</b>	<b>0.381</b>	<b>0</b>	<b>0.465</b>	<b>0.600</b>
<b>Ho</b>		<b>0.286</b>	<b>0.172</b>	<b>0</b>	<b>0.185</b>	<b>1.000</b>
MDH-1	A	1.000	1.000	0.000	1.000	0.000
	C	0.000	0.000	1.000	0.000	0.500
	B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.500
<b>Ha</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0.600</b>
<b>Ho</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1.000</b>
MDH-2	A	0.500	0.697	0.000	0.666	0.000
	B	0.500	0.303	0.583	0.315	0.000
	C	0.000	0.000	0.417	0.019	1.000
<b>Ha</b>		<b>0.524</b>	<b>0.429</b>	<b>0.530</b>	<b>0.465</b>	<b>0</b>
<b>Ho</b>		<b>0.096</b>	<b>0.121</b>	<b>0.500</b>	<b>0.185</b>	<b>0</b>
GOT-1	A	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
	B	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
GOT-2	A	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
	B	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
APH	A	0.000	1.000	0.000	0.722	1.000
	B	1.000	0.000	1.000	0.278	0.000
<b>Ha</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0.409</b>	<b>0</b>
<b>Ho</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0.185</b>	<b>0</b>

présente un taux d'hétérozygotie ( $H_o=0.104$ ) relativement plus élevé que celui relevé chez les autres populations bisexuées d'*Artemia* indiquant un écart à la panmixie ( $H_a=0.206$ ).

**Divergence génétique**

Les valeurs des distances (D) et des identités (I) génétiques obtenues entre les cinq populations étudiées,

prises deux à deux, sont consignées dans le tableau III. Les valeurs de l'identité génétique varient de 0.331 à 0.917. La valeur la plus élevée est observée entre les deux populations de Sfax et El Adhibet et la plus faible entre Korsia et Sijoumi. Les valeurs des distances génétiques varient de 0.087, entre les deux populations d'El Adhibet et Sfax, à 1.105 entre les deux populations

Tableau II : Paramètres de variabilité génétique de 5 populations d'*Artemia*

Ha : Hétérozygotie moyenne attendue dans les conditions de Hardy-Weinberg. Ho : Hétérozygotie moyenne observée. P : Pourcentage de loci polymorphes. Les valeurs entre parenthèse correspondent à l'erreur standard

	Nombre moyen d'allèles par locus	P	Hétérozygotie	
			Ho	Ha
KOR	1.5 (0.2)	45.5	0.104 (0.040)	0.206 (0.077)
SFX	1.6 (0.3)	36.4	0.069 (0.031)	0.150 (0.066)
EJR	1.3 (0.2)	18.2	0.082 (0.055)	0.105 (0.071)
EDH	1.7 (0.3)	45.5	0.051 (0.022)	0.158 (0.072)
SIJ	1.4 (0.2)	36.4	0.364 (0.152)	0.242 (0.108)

de Korsia et Sijoumi. Cette dernière étant la plus divergente génétiquement.

L'examen du dendrogramme, élaboré par la méthode de l'UPGMA (Fig 2), permet de distinguer trois niveaux de divergence. La population de sebkhet Sijoumi diverge la première des autres populations.

Un second cluster correspond à la divergence de la population d'El Jerid dont la distance génétique est estimée à 0.704 de celle de Sijoumi. Enfin, le troisième niveau groupe les trois populations de Sfax, El Adhibet et Korsia qui viennent s'unir à la population d'El Jerid à une distance génétique de 0.295 (Tab III). Au sein de ce troisième niveau, EDH et SFX sont génétiquement les

plus proches (D = 0.087), auxquelles vient s'unir la population de Korsia à une distance génétique de 0.14.

## DISCUSSION

Malgré les nombreux travaux réalisés sur *Artemia*, la systématique du genre est restée pendant longtemps confuse et controversée. En effet, basés sur l'étude de la malate déshydrogénase et de l'estérase de 15 populations d'*Artemia* dont deux méditerranéennes, Bowen et Sterling (1978) ont proposé l'appellation *A. tunisiana* pour toutes les populations méditerranéennes bisexuées afin d'éviter la confusion avec l'appellation *A. salina* Leach 1819 qui sera désormais non valide. Cette dernière espèce caractérise uniquement les spécimens de la population de Lymington en Angleterre actuellement disparue. Plusieurs scientifiques ont adopté l'appellation *A. tunisiana* lors du symposium international sur *Artemia* en 1978 et en 1985 (Abreu-Grobois et Beardmore, 1980 ; Bowen *et al.*, 1980). Cependant, Triantaphillidis *et al.* (1997), en étudiant deux populations tunisiennes, l'une en provenance de la saline de Sfax et l'autre de la saline de Megrine totalement éteinte car la saline est actuellement abandonnée, suggèrent que *A. salina* est prioritaire et *A. tunisiana* est synonyme selon l'article du principe de priorité (Article 23) du code international de nomenclature zoologique.

De notre point de vue, il est préférable de maintenir le nom scientifique *A. tunisiana* puisque la population naturelle d'*A. salina* de Lymington n'existe plus et que l'étude a été faite sur des cystes conservés, d'où le synonyme junior *A. tunisiana* est prioritaire.

Cette étude, effectuée sur la base de 5 systèmes enzymatiques, a mis en évidence 11 loci dont 7 polymorphes. Malgré le nombre relativement réduit de

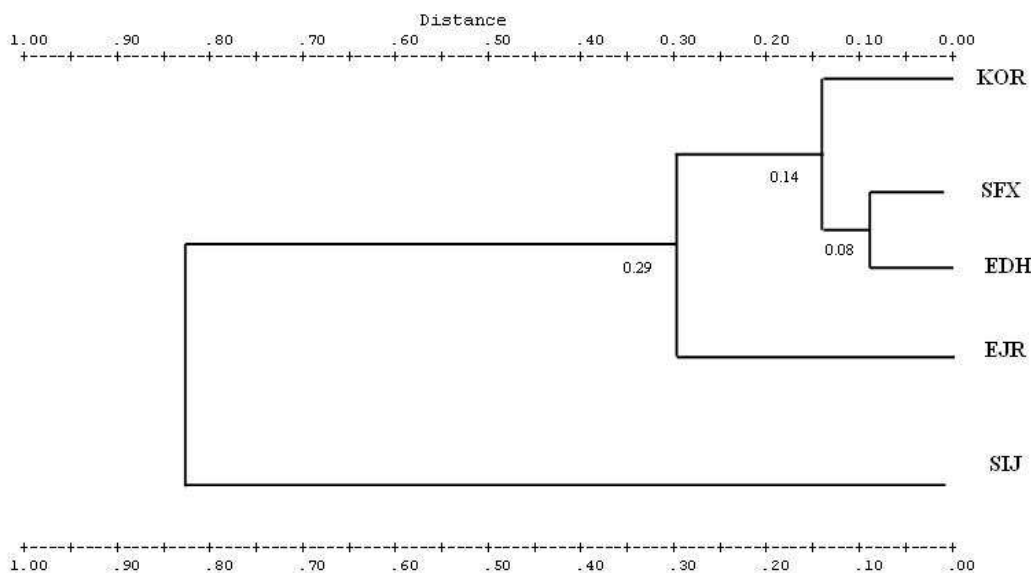


Figure 2. Dendrogramme élaboré à partir des distances génétiques de Nei (1978) par la méthode UPGMA.

locus et d'individus analysés, notre étude montre la divergence génétique de la population de Sijoumi. Les autres populations tunisiennes étudiées présentent des similarités génétiques et peuvent être groupées sous le binôme d'*A. tunisiana*.

Tableau III : Matrice des identités I (au-dessus de la diagonale) et des distances D (au-dessous de la diagonale) génétiques non biaisées de Nei (1978) entre les populations d'*Artemia* estimées sur la base de 11 loci.

Populations	KOR	SFX	EJR	EDH	SIJ
KOR	*****	0.881	0.778	0.859	0.331
SFX	0.127	*****	0.663	0.917	0.441
EJR	0.251	0.411	*****	0.801	0.495
EDH	0.152	0.087	0.222	*****	0.510
SIJ	1.105	0.819	0.704	0.673	*****

La présence de 2 loci codant la GOT semble une caractéristique de toutes les espèces d'*Artemia* étudiées (Pilla et Beardmore., 1994 ; Triantaphyllidis *et al.*, 1997a ; Naihong *et al.*, 2000 ; Abatzopoulos *et al.*, 2002). Nos résultats sont conformes à ceux trouvés pour l'espèce *A. franciscana* mais différent de ceux décrits chez les espèces, *A. urmiana*, *A. sinica* et *A. tibetiana* où la GOT est contrôlée par un locus polymorphe selon Abatzopoulos *et al.* (2002). Un locus a 2 allèles contrôle l'activité de la GOT1 chez *A. persimilis* (Garjardo *et al.*, 1999). Selon Naihong *et al.* (2000), le locus codant la GOT est polymorphe chez l'espèce *A. sinica*.

L'APH est généralement codée par plusieurs loci (Pasteur *et al.*, 1987). Dans notre cas, la présence de bandes diffuses et difficilement interprétables nous pousse à retenir un seul locus. Celui-ci est polymorphe au niveau la population EDH, alors qu'il est monomorphe au niveau des autres populations. Ces résultats sont conformes à ceux de Bowen *et al.* (1980) qui ont mis en évidence un locus monomorphe chez *A. tunisiana* de Megrine et de Sfax ; ce locus s'est avéré polymorphe chez *A. franciscana*, *A. persimilis* et *A. monica*.

L'hypothèse d'un contrôle digénique et de la structure dimérique de l'IDH est vérifiée chez toutes les espèces d'*Artemia* étudiées (Abreu-Grobois et Beardmore, 1980 ; Pilla et Beardmore, 1994 ; Triantaphyllidis *et al.*, 1997b ; Naihong *et al.*, 2000).

Comme pour la GOT, le locus de l'IDH constitue un marqueur biochimique qui permet de discriminer génétiquement la population de sebkhet Sijoumi des autres populations étudiées. En effet, l'IDH1 présente deux allèles D et E spécifiques de la souche Sijoumi. L'allèle C n'est révélé qu'une seule fois chez un individu de la population de sebkhet El Adhibet.

La MDH est contrôlée par deux loci généralement polyalléliques. Cette enzyme a conduit Bowen et Sterling (1978) d'identifier l'espèce *A. tunisiana*. Ces deux auteurs ont séparé les profils observés en trois catégories dont le plus cathodique caractérise la souche parthénogénétique, alors que les deux autres caractérisent les espèces bisexuées. La MDH constitue un excellent marqueur enzymatique diagnostique permettant de

différencier l'espèce *A. tunisiana* de la souche de sebkhet Sijoumi, ce qui confirme notre hypothèse d'attribuer à cette dernière le statut spécifique *A. parthenogenetica*. Chez d'autres espèces du même genre, la MDH1 est bi-allélique alors que la MDH2 est tétra-allélique (Abreu-Grobois et Beardmore, 1980).

L'hétérozygotie observée chez la population de sebkhet Sijoumi est nettement supérieure à celle attendue avec un excès en hétérozygotes. Cette situation semble être très fréquente chez la plupart des espèces parthénogénétiques (Solignac, 1995).

Malgré son taux d'hétérozygotie observée ( $H_o=0.104$ ) relativement plus élevé que chez les autres populations, la population KOR n'est pas en équilibre panmictique ( $H_a=0.206$ ).

Les taux de polymorphisme, obtenus pour les populations de SFX, EDH et EJ, varient de 36.4 à 45.5%. Ces valeurs sont de même ordre de grandeur que celles mentionnés par Pilla et Beardmore (1994) pour cinq espèces bisexuées d'*Artemia*, avec des valeurs comprises entre 30 et 65 % ; il est égal à 35 % pour l'espèce *A. tunisiana*.

Les taux d'hétérozygotie observés chez les populations bisexuées oscillent entre 0.051 et 0.104 avec une valeur moyenne de 0.076. Un taux moyen égal à 0.057 a été également estimé par Pilla et Beardmore (1994). Dans un travail, portant sur 9 populations bisexuées d'*Artemia* en provenance de la Chine, Naihong *et al.* (2000) ont relevé des valeurs légèrement supérieures oscillant entre 0.101 et 0.153. De même, Gajardo *et al.* (1999), en analysant 15 loci chez *Artemia persimilis*, ont estimé une hétérozygotie observée de 0.176.

Ces taux d'hétérozygotie observés chez les populations bisexuées d'*Artemia* se révèlent, par ailleurs, plus élevés en comparaison avec les valeurs trouvées chez d'autres crustacés tels que les décapodes et les pécaricides où le taux d'hétérozygotie varie respectivement de 0.006 à 0.033 (Mulley et Latter, 1980) et de 0.014 à 0.059 (Conceição *et al.*, 1998 ; Charfi-Cheikhrouha, 2007).

La population analysée de Sijoumi se différencie des autres populations, non seulement par la présence d'allèles spécifiques tels que GOT1B, GOT2A, IDH1D, IDH2E et MDH2B, mais par des distances génétiques très élevées d'une valeur moyenne égale à 0.825, cette valeur étant généralement relevée entre des espèces différentes. Ces résultats viennent renforcer l'hypothèse du statut spécifique que nous avons attribué à la population de Sijoumi. En effet, Abatzopoulos *et al.* (2002) ont estimé une distance génétique de l'ordre de 0.730 leur permettant de séparer l'espèce *A. tibetiana* de *A. franciscana*.

Les distances génétiques entre les populations bisexuées de 0.25 et 0.41 sont nettement supérieures aux distances généralement relevées entre les populations de la même espèce (Pasteur, 1985) et sont plutôt voisines de celles enregistrées entre espèces jumelles. Afin de mieux préciser le statut taxinomique de ces 2 populations, on envisage d'augmenter le nombre de locus et de spécimens analysés et d'aborder une étude plus approfondie portant sur les marqueurs moléculaires.

## BIBLIOGRAPHIE

- Abreu-Grobois F. A. et Beardmore J. A. 1980. International Study on *Artemia*. II. Genetic characterization of *Artemia* population – an electrophoretic approach. pp: 133-146. In : The brine shrimp *Artemia*. Vol. 1. Morphology, genetics, Radiobiology, Toxicology. Persoone G. , P. Sorgeloos, O. Roels, and E. Jaspers. Universa Press, wetteren, Belgium. 345 p.
- Abatzopoulos T. J., Kappas I., Bossier P., Sorgeloos P et Beardmore J. A. 2002. Genetic characterization of *Artemia tibetiana* (Crustacea, Anostracea). Biological Journal of the Linnean Society. 75 : 1 – 12.
- Aloui N. 1992. Premiers éléments sur *l'Artemia* en Tunisie. Institut National Scientifique et technologique d'océanographie Salammbô. Rapports et documents Vol 1 : 21-37.
- Aloui N. 2003. Ecobiologie d'*Artemia* en Tunisie. Doctorat d'Etat en Sciences biologiques. Université Tunis EL Manar, Tunisie, 190p.
- Barigozzi C. 1980. Genus *Artemia* : Problems of systematics : 147 – 153. In : The brine shrimp *Artemia*. Vol. 1. Morphology, genetics, Radiobiology, Toxicology. Persoone G. , P. Sorgeloos, O. Roels, and E. Jaspers. Universa Press, wetteren, Belgium. 345 p.
- Ben Abdelkader N. 1985. *L'Artemia* dans les chotts, les sebkhas et les salines de la Tunisie. Bull. Inst. Natn. Scient. Océanogr. Pêche Salammbô. 12 : 87 – 95.
- Bowen S.T. et Sterling G. 1978. Esterase and malate dehydrogenase isosyme polymorphisms in 15 *Artemia* populations. Comp. Biochem. Physiol. 61B : 593-595.
- Bowen S.T., Davis M. L., Fester S. R., et Lindwall G. A.. 1980. Sibling species of *Artemia* . p. 155 – 167. In : The brine shrimp *Artemia*. Vol. 1. Morphology, genetics, Radiobiology, Toxicology. Persoone G. , P. Sorgeloos, O. Roels, and E. Jaspers. Universa Press, wetteren, Belgium. 345 p.
- Charfi-Cheikhrouha. 2007. Genetic structure of the polytypic species *Idotea balthica* (ISOPODA VALVIFERA). Rapp. Comm. int. Mer Médit., 38. p : 448.
- Conceicao M. B., Bishop J. D., et Thorpe J. P. 1998. Genetic relationships between ecologically divergent species of talitrid amphipod (Crustacea). Mar. Ecol. Prog. Ser., 165: 225-233.
- Gajardo G., C. Mercado.; J. A. Beardmore et SORGELOOS P. 1999. International study on *Artemia* .LX. Allozyme data suggest that a new *Artemia* population in southern Chile (50° 29' S; 73° 45' W) is *A. persimilis*. Hydrobiologia 405: 117-123.
- Ghlala A, Charfi F. 2003. Marqueurs biochimiques d'*Artemia* de Sebket Sijoumi (Tunisie). Bull. Inst. Nat. Scient. Océanogr. Pêche Salammbô. Num spécial 7 : 48 – 51.
- Mulley J. C. et Latter B. D. H. 1980. Genetic variation and evolutionary relationships within a group of thirteen species of Penaeid Prawns. Evolution, 34 (5): 904 – 916.
- Naihong X., Audenaert E., Vanoverbeke J. , L. Brendonck., Sorgeloos P et De. Meester L. 2000. Low among – population genetic differentiation in Chinese bisexual *Artemia* populations. Heredity 84. pp : 238 – 243.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89 : 583 – 590.
- Pasteur G. 1985. Les paramètres statistiques communément utilisés dans l'exploitation des résultats de l'électrophorèse des protéines et leur avenir en systématique. In : électrophorèse et taxonomie. Ed Société zoologique de France. 314 p.
- Pasteur N., Pasteur G., Bonhomme S., Catalan J., Britton D. J. 1987. Manuel technique pour l'électrophorèse des protéines. Lavoisier. Tec et Doc. Paris, 217 p.
- Pilla E. J. S et Beardmore J. A. 1994. Genetic and morphometric differentiation in Old World bisexual species of *Artemia* (The brine shrimp). Heredity 73 : 47-56.
- Romdhan M. S. 1992. Aquaculture in Tunisia. World aquaculture 23 (4) : 27-30.
- Shaw C. R et Prasad R. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. Bioch. Genet, 4 : 297 – 320.
- Selander R. K., Smith M. H., Yang S.Y., Johnson W.E. et Gentry J.B. 1971. Biochemical Polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. Variation in the old- field mouse (*Peromyscus polionotus*). Studies in Genetics, 6: 49-90.
- Swofford D et Selander B. R. 1981. A computer program for the analysis of allelic variation in genetics. J. Heredity, 72 : 281 – 283.
- Sneath P. H. A. et Sokal R. R. 1973. Numerical taxonomy. W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- Triantaphyllidis, G. V; Criel G. R. J., Abatzopoulos T. J et Sorgeloos P. 1997a. International Study on *Artemia* L III. Morphological study of *Artemia* with emphasis to old World strains. I. Bisexual populations. Hydrobiologia 357 : 139-153.
- Triantaphyllidis, G. V., Criel G. R. J., Abatzopoulos T. J. ; Thomas K. M., Peleman J., Beardmore J. A. et Sorgeloos P. 1997b. International Study on *Artemia* LVII. Morphological and molecular characters suggest conspecificity of all bisexual european and North African *Artemia* populations. Marine biology. 129 : 477-487.
- Turki S. 1986. Etude des œufs d'*Artemia salina* (Leach 1819) dans les salines de Megrine – Tunisie. Bull. Inst. Nat. Scient. Océanogr. Pêche Salammbô. 13 : 25 – 32.

Van Baller E., Versichelle D., Vanhaecke P., Léger P., Ben Abdelkader N., Turki S et Sorgeloos P. 1987. Characterization of *Artemia* from different localities in Tunisia with regard to their use in aquaculture. In : *Artemia* research and its

application. 1987. Vol 3 : Morphology, genetics, strain characterization, toxicology. Sorgeloos P., Bengtson D.A., Declair W., and Jaspers E. (Eds). Universa Press, Wetteren, Belgium, 380 P.