

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحروتهيئة الساحل

École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer  
et de l'Aménagement du Littoral



Mémoire de Fin d'Études

En vue de l'obtention du Diplôme d'Ingénieur en Sciences de la Mer

Option :Aquaculture

Thème :

*Contribution à La différenciation  
morphométrique et génétique des carassins  
communs (Carassius carassius)*

Présenté par : Melle CHAKOUR Sabiha&MelleDJADJA Meriem

Soutenu le30Septembre 2015, devant le jury composé de :

MR BELHASNAT K.	Maitre de conférences B (ENSSMAL)	Président
MmeAMAR I.	Maitre assistante A (ENSSMAL)	Promotrice
Mme ALOUACHE S.	Maitre de conférences B (ENSSMAL)	Examinatrice
Mme CHAOU N.	Maitre assistante A(ENSSMAL)	Examinatrice

Promotion 2014/2015

## Remerciements

Au nom de dieu le clément le miséricordieux,

Au moment où l'on termine notre mémoire, nous n'oublions pas d'adresser nos sincères remerciements à notre dieu le grand créateur qui nous a guidés dans nos pas pour achever ce travail et d'arriver à ce niveau.

C'est un plaisir autant qu'un devoir d'exprimer nos gratitude à toutes les personnes ayant contribué, chacune à sa manière, pour le bon déroulement de notre formation, et la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons à remercier nos chers parents, nos frères et sœurs qui nous ont constamment aidés de leurs conseils, encouragement et de leur soutien moral tout le long de nos études.

On tient à remercier **Madame AMAR Imen** qui a encadré ce travail, qui nous a orienté et nous a dirigé, pour sa présence, son aide, ses conseils et ses recommandations.

Nos remerciements s'adressent également à :

**Monsieur BELHASNAT.K** qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury. Nous lui exprimons nos plus vifs remerciements.

**Madame ALLOUACHE S.** et **Madame CHAOU N.** qui ont accepté d'examiner ce travail, qui trouvent ici l'expression de nos remerciements les plus sincères.

Nous souhaitons remercier **Monsieur HEMIDA F.** pour les bases de données qui nous a apporté en statistiques appliqués, qui ont été un support pour notre étude.

**Monsieur SAHRAOUI Hamza** qui nous a dirigés dans l'interprétation de nos résultats.

**Monsieur BENDJEDOU** qui n'a pas hésité à nous aider avec ses connaissances et ses explications.

Un grand merci pour l'ensemble des personnes de **L'E.N.S.S.M.A.L** qui nous ont permis de réaliser cette étude dans les meilleures conditions de travail et dans une bonne ambiance.

Aussi, nous ne pouvons empêcher de remercier, et sans exception, tous nos collègues de promotions de fin d'étude « Aquaculture 2015 » et tous nos amis.

Enfin nous ne pouvons achever ce mémoire sans exprimer notre gratitude à tous les professeurs de **L'E.N.S.S.M.A.L** pour leur assistance tout le long de nos études universitaires.

Nous espérons n'avoir oublié personne, si c'est le cas veuillez nous le pardonner.

## Dédicaces

*Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une énorme joie que je dédie ce modeste travail à :*

*Ma chère mère : « tu m'as donnée la vie, la tendresse et le courage pour réussir  
Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte, Que ce travail soit le fruit de toutes tes peines et tes sacrifices avec moi ».*

*Mon cher père : L'épaulé solide, l'œil attentif compréhensif, mon soutien moral, ma source de joie et de bonheur et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que dieu vous préserve et vous procure santé et longue vie. En témoignage je vous offre ce modeste travail pour vous remercier pour vos sacrifices et pour l'affection dont vous m'avez toujours entourée.*

*Mes grands-parents qui éclairent mon chemin et m'illuminent de douceur et d'amour que dieu vous garde pour nous.*

*Mon frère Abderrahmane,*

*Ma sœur Mouna, son mari Hocine et leurs anges Yasmine et Asma ; les bougies de la maison,*

*Mes oncles : Hocine et Ali,*

*Mon mari Oussama qui m'a toujours soutenu moralement et encouragé,*

*Ma belle-mère Yema Karima qu'Allah l'accueille dans son vaste paradis,*

*Mon beau-père, mes belles sœurs ; Amina, Asma, Noussayba et Fettoum,*

*Mon beau-frère Mhamed et sans oublier le petit Noufel,*

*Ma tante et ma deuxième mère Amel et ses enfants : Aymen, Rafik et Maria,*

*Tous les membres de ma famille : tentes, oncles, cousins maternelles et paternelles,*

*Mes chers amis spécialement : Batoul, Ayoub, Ramdane, Oussama, Adlane, Nadira, Fadhila, Shara et en particulier Ghanoucha.*

*Je termine avec la personne qui a partagée tous le travail et les moments de stress avec moi; ma meilleure amie Sabiha.*

*Et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis Merci.*

*Meriem.*

## Dédicaces

*A cœur vaillant rien d'impossible je dédie ce modeste travail à:*

*Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien ma vie.*

*Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit.*

*Merci pour les valeurs nobles*

*Ma grand-mère mon grand-père je vous aime très fort, Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.*

*Mes frères et sœurs: Imade Eddine, Hamza, Nawel, Romaiïssa et je n'oublie pas Faïza et son mari Hamada et leurs fille Arwa qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de courage et de générosité.*

*Ma cher sœur Ibtissam qu'Allah l'accueille dans son vaste paradis.*

*Mon frère Islam, mon fidèle compagnant dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse, je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite.*

*Mes chers oncles et tantes, en particulier: AbdeElwahab, Mouh, Kamel, Sabira, Mouloude, Simoucha, Nacira, Houria, Fatima et je n'oublie pas tata Rabiea.*

*Mes chers cousins et cousines, en particulier: Amina, Sabrina, Soumia, Asma, Nadia.*

*Tous les membres de ma famille, petits et grands*

*Mes chers amis et amies en particulier: Shara, Ghania, Samira, Lamia, Ramdan, Oussama, Adlane.*

*A la personne qui été toujours présente dans tous mes moments d'examens par son soutien moral et ses conseils : Ayoub Fida Eddine*

*Tous les étudiants de ma promotion 2015*

*Je ne peux pas terminer sans dédie ce travaille à la personne qui me supporte au moment de stress ma meilleur amie Meryouma.*

*Que ce travail soit, avec la bénédiction de Dieu, le symbole de la paix des cœurs.*

*Sabiha.*

## Sommaire

Introduction .....	11
I. Généralités .....	13
Présentation de l'espèce.....	13
<b>I.1.1</b> <b>Systématique</b> .....	<b>13</b>
<b>I.1.2</b> <b>Description morphologique</b> .....	<b>13</b>
<b>I.1.3</b> <b>Biologie et écologie</b> .....	<b>14</b>
<b>I.1.4</b> <b>Habitat et mœurs</b> .....	<b>14</b>
<b>I.1.5</b> <b>Qualité d'eau</b> .....	<b>15</b>
<b>I.1.6</b> <b>Régime alimentaire</b> .....	<b>15</b>
<b>I.1.7</b> <b>Prédation</b> .....	<b>16</b>
<b>I.1.8</b> <b>Distribution géographique</b> .....	<b>16</b>
<b>I.1.9</b> <b>Principaux pays producteurs</b> .....	<b>17</b>
Reproduction .....	17
<b>I.1.10</b> <b>Maturité sexuelle</b> .....	<b>17</b>
<b>I.1.11</b> <b>Frai</b> .....	<b>17</b>
<b>I.1.12</b> <b>Croissance</b> .....	<b>18</b>
<b>I.1.13</b> <b>Hybridation</b> .....	<b>19</b>
Système de production : .....	19
<b>I.1.14</b> <b>Production d'écloserie</b> .....	<b>19</b>
<b>I.1.15</b> <b>Nurserie</b> .....	<b>19</b>
<b>I.1.16</b> <b>Elevage de fingerlings</b> .....	<b>20</b>
<b>I.1.17</b> <b>Techniques de grossissement</b> .....	<b>20</b>
<b>I.1.18</b> <b>Techniques de récolte</b> .....	<b>20</b>
Impacts.....	20
Méthodes d'identification à l'échelle moléculaire .....	21
<b>I.1.19</b> <b>Par l'électrophorèse des protéines</b> .....	<b>21</b>
<b>I.1.20</b> <b>Par analyse de l'ADN</b> .....	<b>21</b>
II. Matériels et Méthodes .....	25
Présentation de la région d'étude.....	25
<b>II.1.1</b> <b>Béni Haroun</b> .....	<b>25</b>
<b>II.1.2</b> <b>Barrage d'Ain Zada</b> .....	<b>26</b>

II.2	Matériel biologique.....	27
	Analyse morphométriques.....	27
<b>II.2.1</b>	<b>Les caractères de mensurations (métriques).....</b>	<b>28</b>
<b>II.2.2</b>	<b>Les caractères de comptages (méristiques).....</b>	<b>30</b>
<b>II.2.3</b>	<b>Méthodes statistiques.....</b>	<b>31</b>
II.5	Extraction de l'ADN à partir de foie congelé.....	33
III.	Résultat et discussion.....	37
	Analyse morphométrique.....	37
<b>III.1.1</b>	<b>Calcul des rapports morphométriques.....</b>	<b>37</b>
<b>III.1.2</b>	<b>Caractères méristiques.....</b>	<b>37</b>
<b>III.1.3</b>	<b>Calcul du test de comparaison.....</b>	<b>38</b>
<b>III.1.4</b>	<b>Analyse en composantes principales.....</b>	<b>38</b>
	Extraction de l'ADN à partir de foie congelé.....	42
<b>III.1.5</b>	<b>Le rendement.....</b>	<b>42</b>
<b>III.1.6</b>	<b>L'électrophorèse.....</b>	<b>43</b>
	Conclusions.....	45
	Référence bibliographique.....	47
<b>Annexe</b>	.....	<b>52</b>

## Liste des figures

<b>Figure (1):</b> Différence morphologique avec la carpe. ....	14
<b>Figure (2):</b> Anatomie interne et externe du carassin. ....	14
<b>Figure (3):</b> Distribution géographique mondiale de <i>Carassius carassius</i> ( <b>Luna, 2014</b> ) .....	16
<b>Figure (4):</b> les œufs chez une femelle (à droite) et la laitance chez un male du carassin (à gauche). ....	18
<b>Figure (5):</b> localisation du barrage Béni Haroun (image de Google Maps) .....	25
<b>Figure (6):</b> Localisation du barrage d'Ain Zada (Image de Google Maps) .....	26
<b>Figure (7):</b> Pêche, conservation et transport des spécimens. ....	27
<b>Figure (8):</b> Mensurations effectuées sur les spécimens (les numéros d'ordre sur la figure représentent les caractères métriques étudiés) ( <b>Google image</b> ).....	28
<b>Figure (9):</b> l'apparition de la méduse d'ADN .....	34
<b>Figure (10):</b> projection des variables initiales dans le plan I-II-III .....	40
<b>Figure (11):</b> Projection des individus de deux barrages dans le plan factoriel I, II et III.....	41
<b>Figure (12):</b> Méduse d'ADN obtenue lors de l'extraction à partir du foie.....	42
<b>Figure (13):</b> Visualisation sur gel d'agarose 0,8% de l'ADN génomique pour <i>Carassius carassius</i> (Piste 1-3 : carassin BH; Piste 2-4 : carassin AZ).....	43

## Liste des tableaux

<b>Tableau (1):</b> Numéros et abréviations des variables sélectionnées.....	29
<b>Tableau (2):</b> Fluctuation des moyennes des indices morphométriques entre les carassins de deux barrages.....	37
<b>Tableau (3):</b> Fluctuation de la moyenne des caractères méristiques.....	38
<b>Tableau (4):</b> Test de comparaison entre les deux rapports morphométriques de Carassins des deux sites. ....	38
<b>Tableau (5):</b> Extraction des composantes principales et valeurs propres des 3 axes.....	39
<b>Tableau (6):</b> Contribution des variables à la formation des axes I, II et III.....	39
<b>Tableau (7):</b> Quantité de foie à analyser .....	42

## **Liste des acronymes**

**ACP** :Analyse en Composantes Principales

**ADN mt**: ADN mitochondrial

**ADN**: Acide Désoxyribo Nucléique

**ADNg**:ADN génomique

**AmFLP**:Amplified fragment-lengthpolymorphism

**ARN** :Acide Ribonucléique

**ARNm**: ARN messagers

**EDTA**: Ethylène diamine tétra acétique acide

**FAO**:Food and Agriculture Organization

**PCR**:Polymerase Chain Reaction

**PEG**:polyethylene glycol

**RFLP**: Polymorphisme de taille des fragments de restriction

**SLR** :Solution de Lyse des Globules Rouges

**Kb** :kilobase

# Introduction

## Introduction

Qu'elle soit douce, saumâtre ou marine, l'eau est peuplée d'êtres vivants dont les formes les plus connues et les plus consommées sont : les poissons, les mollusques et les crustacés (Barnabé, 1991).

Les cyprinidés, dont la production en élevage dépasse 6 millions de tonnes dans le monde, est le groupe le plus exploité en aquaculture (Billard, 1995). L'activité piscicole en Algérie consistait en l'importation de diverses espèces dulçaquicoles et leur introduction dans divers plans d'eau et barrages (Meddour, et al., 2005).

Le carassin est certainement un poisson spécial. Il est particulier en raison de ses compétences de survie. Il est souvent le seul poisson à tolérer les conditions les plus extrêmes qui tuent d'autres espèces (Rolf, 2010).

L'identification d'un très grand nombre d'espèces aquatiques non décrites à ce jour représente un travail colossal. C'est un goulot d'étranglement dans le processus qui conduit de l'échantillonnage à l'analyse des données. Il s'agit pourtant d'un point de départ crucial de toute recherche en biologie des organismes et écosystèmes aquatique.

Cependant, cette méthode connaît certaines limites quand il s'agit, par exemple, de différencier des espèces qui se ressemblent beaucoup morphologiquement.

C'est pourquoi les outils génétique et moléculaire fournissent des moyens particulièrement efficaces pour distinguer les individus appartenant à des espèces différentes ou regrouper les individus d'une même espèce.

Dans notre manuscrit, nous présentons une étude systématique sur les carassins communs (*Carassius carassius*), basée sur les critères morphologiques et génétiques de ces poissons. Dans le but de la différenciation génétique de ces cyprinidés, nous avons procédé à l'établissement d'un protocole de l'extraction de l'ADN génomique à partir des organes de ces poissons, nous exposons aussi quelques méthodes et techniques génétiques et moléculaires, avec certains exemples de leurs applications dans la différenciation des espèces de poissons.

Enfin, nous proposons parmi ces méthodes, celles qui semblent être les plus fiables pour être appliquées dans la caractérisation des poissons.

# Chapitre 1

## Généralités

## Généralités

### I. Généralités

#### Présentation de l'espèce

##### I.1.1 *Systématique*

Règne : animalia

**Embranchement** : chordata

Sous embranchement : vertebrata

Super classe : osteichtyes

**Classe** : actinopterygii

Sous classe : neopterygii

Super ordre : ostariophysi

**Ordre** : cypriniformes

Super famille : cyprinoidea

**Famille** : cyprinidae

**Genre** : *Carassius*

**Espèce** : *Carassius carassius*(**Linnaeus, 1758**).

#### Origine du nom scientifique:

*Carassius* : ce mot serait la latinisation du nom allemand « Karas » (**Bruslé, et al., 2013**)

##### I.1.2 *Description morphologique*

Le corps massif, haut, légèrement comprimé latéralement est couvert de grandes écailles le fait ressembler à une carpe. Les nageoires ont des bords arrondis, la dorsale haute et convexe(**Bruslé, et al., 2013**).

La bouche, dirigée vers le haut est dépourvue de barbillons (différence avec la carpe *C. carpio*(**Figure (1)**)(**Breton, et al., 1999**), Dents pharyngiennes(**Bruslé, et al., 2013**).

Cette espèce indigène, très robuste, supporte toutes les compositions de l'eau(**Allgayer, et al., 2007**)

## Généralités



Figure (1): Différence morphologique avec la carpe.

La couleur brun-olivâtre (Figure (2)) du dos s'atténue sur les flancs. Le ventre est jaunâtre. Le carassin atteint 20 cm. parfois 40 cm et près de 3 kg (Breton, et al., 1999).

### I.1.3 Biologie et écologie

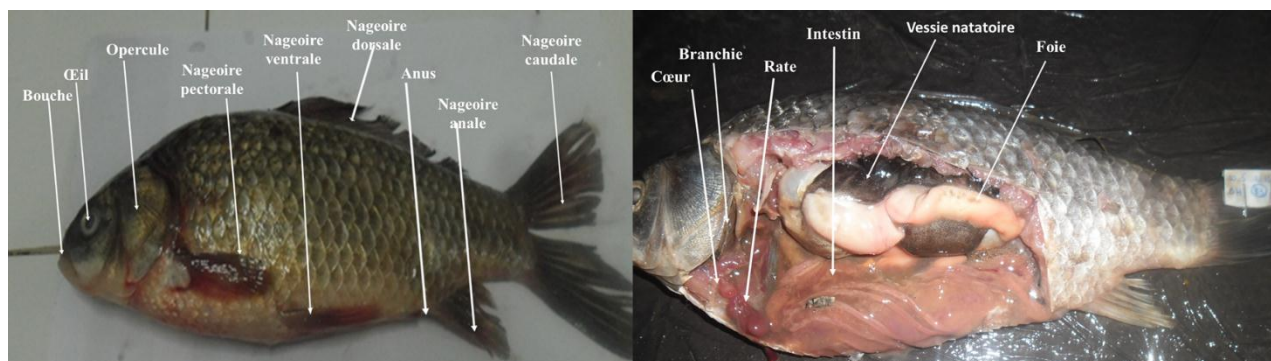


Figure (2): Anatomie interne et externe du carassin.

### I.1.4 Habitat et mœurs

Le carassin est un poisson Typiquement lacustre, peuplant les eaux dormantes, tièdes ou chaudes, le carassin commun fréquente les zones littorales des lacs, les marécages (Bruslé, et al., 2013), les étangs peu profonds (Breton, et al., 1999).

Il peut résister à des conditions particulièrement drastiques : sursaturations et déficits en oxygène dissous, baisse importante du niveau de l'eau (Breton, et al., 1999).

Très rustique, il présente une grande résistance à l'acidité des eaux (pH 4,5) et aux pollutions, d'où sa grande faculté d'adaptation, avec une capacité d'hibernation (Bruslé, et al., 2013) pouvant aussi survivre dans des milieux presque asséchés en s'enfouissant dans la vase. Il vit par groupes et affectionne les zones riches en végétation aquatique (Kottelat, et al., 2007 in Bruslé, et al., 2013).

### **Généralités**

Sa biologie est comparable à celle de la carpe *C. carpio*, en raison de son caractère thermophile, recherche les eaux chaudes (15-20 °C) et il supporte jusqu'à 30 °C et plus(**Kottelat, et al., 2007 in Bruslé, et al., 2013**).

D'après(**Cuivier, 1842**),ce cyprin vit dans les eaux claires et limpides, mais qu'il se tient aussi dans les eaux impures, et même dans les eaux salées, étant toujours le premier colon qui s'établit dans les lacs nouvellement formés dans les déserts. Ils s'engourdissent pendant l'hiver, en se serrant en troupes même dans les lacs qui se congèlent jusqu'au fond, et ils résistent tout l'hiver à cet état de congélation, mais à la fonte des glaces ils se revivifient dans ces eaux.

En présence de prédateurs, le carassin commun aura une croissance plutôt en hauteur qu'en longueur et choisira des habitats plus protégés(**Conti, et al., 2013**).

#### **I.1.5 Qualité d'eau**

Les scientifiques ont étudié certainement sa capacité à survivre sans oxygène, généralement lorsque la glace et la neige réduisent les niveaux d'oxygène dans l'eau à près de zéro, les carassins ont la capacité de passer du métabolisme aérobie normale à celui qui ne repose pas sur l'oxygène. Les tortues d'eau douce ralentissent tout leur système afin d'avoir besoin de moins d'oxygène, mais le carassin reste plus actif, en utilisant leurs réserves de glycogène plus construit dans la fin de l'été (**Rolf, 2010**), Les carassins peuvent aussi ajuster la morphologie de ses branchies pour correspondre à ses besoins en oxygène (**Sollid, et al., 2005**)et (**Vornanen, et al., 2009**).

#### **I.1.6 Régime alimentaire**

Omnivore, il consomme des végétaux tendres(**Breton, et al., 1999**)et des petits organismes benthiques, en particulier des larves de chironomes. Les juvéniles <10 cm, qui sont les plus vulnérables à la prédation, consomment une plus faible quantité de proies invertébrées en présence d'un prédateur, la perche *Perca fluviatilis*, qu'en son absence(**Bruslé, et al., 2013**).

Dans un aquarium et probablement à l'état sauvage, les carassins sont ramasseurs de fond plutôt que les creuseurs de fond. Après tout, ils ont une bouche assez petite et bien que les lèvres soient reconductibles il n'y a pas de barbules permettant de détecter les créatures plus profondément cachés. Les carassins ne seront pas en mesure de se plonger tout aussi profondément dans la vase de fond comme, par exemple, la carpe ou la tanche, mais ils mangent la même nourriture, en particulier les larves de moucheron, qui sont souvent présents en grand nombre, soit nager librement ou se cachant dans la couche liquide de la boue et ci-dessous, ou de charger la sous-surface des nénuphars dans leurs tubes de limon fines(**Rolf, 2010**) .

# Contribution à la Différenciation Morphométriques et Génétique de Carassin Commun (*Carassius carassius*)

## Généralités

### I.1.7 Prédation

Comme les autres Cyprinidés, le carassin commun constitue une espèce-proie pour les carnassiers(Bruslé, et al., 2013), tel que le brochet (*Esox lucius*), la perche (*Perca fluviatilis*), le sandre (*Sander lucioperca*) ou encore le silure (*Silurus glanis*)(Conti, et al., 2013).

Il apparaît très vulnérable vis-à-vis de la prédation, bien qu'une certaine plasticité morphologique, physiologique et comportementale se manifeste en réponse à la présence de piscivores : plus grande hauteur du corps, croissance plus rapide, sensibilité à des substances d'alarme, choix d'habitats mieux protégés qui constituent autant de stratégies adaptatives(Bruslé, et al., 2013).

### I.1.8 Distribution géographique

Originaire d'Asie, le carassin commun a été domestiqué de longue date et progressivement introduit en Europe orientale puis dans presque toute l'Europe, centrale et occidentale(Figure(3)). Il est actuellement présent de la grande Bretagne à la Russie (Ouest de la Léna). Il est absent de la bordure Nord de la Scandinavie et de l'Ecosse, d'Irlande, du Sud de l'Italie ainsi que d'Espagne. L'extension de son aire de répartition en France est récente. Il est actuellement absent de la zone alpine, de Bretagne, de Corse..., mais il se rencontrerait encore, à moins qu'il n'y ait confusion avec *C. gibelio*, dans des fleuves et des lagunes littorales méditerranéennes de salinité <10 mg.l<sup>-1</sup>(Bruslé, et al., 2013).

D'après (Cuivier, 1842), cette espèce se trouve aussi dans les provinces méridionales et orientales de la Russie et dans tous les lacs de la Russie et de la Sibérie, plus abondant au Sud qu'au Nord.

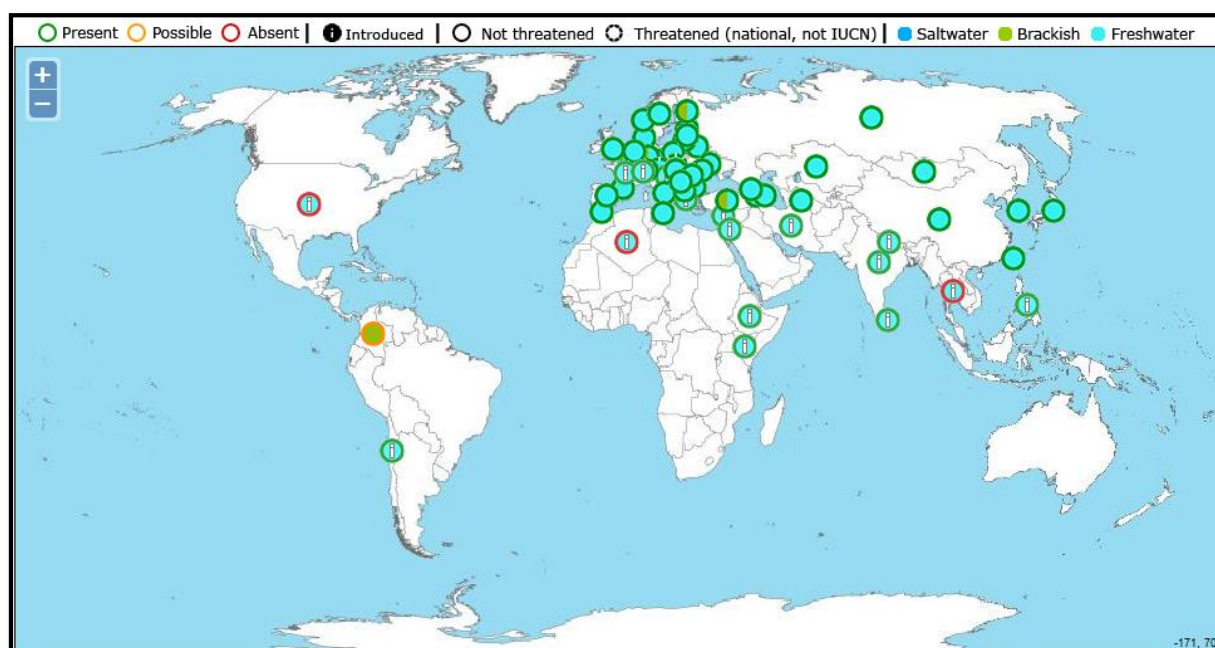


Figure (3): Distribution géographique mondiale de *Carassius carassius*(Luna, 2014)

## **Généralités**

### **I.1.9 Principaux pays producteurs**

Comme la plupart des Cyprinidés, le carassin commun est robuste, ce qui en fait une espèce facile à élever (Conti, et al., 2013).

Tous les producteurs du carassin d'élevage sont situés en Asie et en Europe de l'Est, cependant, seulement deux (Taiwan Province de Chine et Belarus) qu'ont produit plus de 1500 tonnes en 2002 (FAO, 2015), et trois autres (Japon, Ouzbékistan et la République de Corée) qu'ont produit plus de 100 tonnes (FAO, 2015).

## **Reproduction**

### **I.1.10 Maturité sexuelle**

La maturité sexuelle est atteinte au cours de la 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> ou la 4<sup>ème</sup> année de vie selon les latitudes (à une taille de 11-13 cm et un poids de 85-100 g) (Bruslé, et al., 2013), mais des scientifiques de recherche récents ont trouvé des carassins sexuellement matures dès l'âge de 1 an (Rolf, 2010).

La maturation sexuelle des femelles est conditionnée par des températures chaudes en photopériode longue (Bruslé, et al., 2013).

Les mâles portent des tubercules sur les premiers rayons des pectorales et sur les opercules (Schlumberger, et al.). Les femelles de carassins sauvages utilisent des signaux olfactifs pour communiquer avec les mâles en préalable à l'accouplement et à la ponte. Ces femelles en phase de pré-ovulation (hormone lutéinisante LH) libèrent des signaux stéroïdiens phéromonaux et des prostaglandines PGF, provoquant une augmentation rapide de LH plasmatique qui induit, à son tour, un accroissement à la fois quantitatif et qualitatif de la production de sperme et de liquide séminal (Bruslé, et al., 2013).

### **I.1.11 Frai**

Le carassin est un multiple (fractionnaire) géniteur avec jusqu'à trois périodes de frai entre fin mai et début Août (Holopainen, et al., 1985).

En mai-juin, lorsque les eaux se réchauffent aux environs de 16°C chaque femelle libère (Figure (4)) de 100 000 à 300 000 ovules (Breton, et al., 1999). Et dans les conditions favorables le carassin est un poisson prolifique. Un vieux poisson plus de 6 ans peut produire jusqu'à 11 000 œufs (Rolf, 2010).

### Généralités



**Figure (4):** les œufs chez une femelle (à droite) et la laitance chez un male du carassin (à gauche).

La fécondité et la taille du corps sont positivement corrélés ce qui pourrait entraîner des fécondités élevées dans la population (**Tarkan, et al., 2009**).

La femelle dépose graduellement ses œufs sur les végétaux aquatiques submergés (phytophilie), auxquels ils adhèrent en raison de leur viscosité, Les œufs mesurent de 1 à 1,5mm (**Bruslé, et al., 2013**).Le diamètre des œufs n'a pas été significativement corrélé avec la taille du corps(Moisander, 1991).

Les œufs de carassin fécondés et incubés à des températures constantes éclosent habituellement à 15-28 ° C, mais ils meurent à 5-10 et 30 ° C. Le plus court temps de développement embryonnaire (<3 jours) à 24-28 ° C. les œufs éclosent aussi en six jours à 18-19 ° C. l'alimentation exogène commence à 6,5-7,2 mm, après le développement 2-4 jours à 20-30 ° C (**Laurila, et al., 1987**).

A la naissance (4 à 8 jours plus tard), l'alevin qui dispose d'une papille adhésive se colle aux plantes aquatiques(**Breton, et al., 1999**).

La période de transformation d'alimentation endogène à l'alimentation exogène est l'une des périodes critiques dans le développement de poissons et particulièrement sensibles à l'environnement (température, disponibilité de la nourriture)(**Laurila, et al., 1987**).

#### **I.1.12 Croissance**

À la fin de cette période de l'alimentation est endogène, la bouche est ouverte, l'intestin est entièrement développé et les larves sont capables de se nourrir de petits organismes planctoniques (**Laurila, et al., 1987**). Lorsque la nourriture est disponible, les larves commencent l'alimentation mixte à des longueurs de 6,5-7,2 mm, après le développement 2-4 jours à 20-30 ° C, quand une grande partie du jaune est encore présente (**Laurila, et al., 1987**).

# Contribution à la Différenciation Morphométriques et Génétique de Carassin Commun (*Carassius carassius*)

---

## Généralités

Le carassin est très sensible parmi les cyprinidés au type de nourriture offerte au début de l'alimentation exogène. Ceci est très probablement en corrélation avec le système digestif mal développé des larves de cette espèce (Daniel, et al., 2011).

### I.1.13 Hybridation

Les jeunes carassins ont une barre noire distinctive en face de la queue, les poissons rouges ne l'ont pas. Les hybrides entre les deux peuvent montrer la même marque, de même que la tanche. Cette ligne claire se transforme en une tache que les âges de poissons et disparaît par le troisième été (Rolf, 2010).

Il existe des possibilités d'hybridation, en particulier avec la carpe (*Cyprinus carpio*) avec laquelle il partage le même système phéromonal (Burnard, et al.) donnant un poisson sous les noms de carousse blanche, demi-carassin (Germain, 1925), et avec la rotengle (*Scardinius erythrophthalmus*) (Bruslé, et al., 2013), et les mâles peuvent participer à la reproduction par gynogenèse du carassin doré (*carassius auratus*) (Bruslé, et al., 2013) et (Smartt, 2007).

Il y a une autre différence importante entre *C. auratus* et *C. carassius* en plus de leurs différences dans la morphologie. Tandis que *C. carassius* ( $2n = 100$ ) est une espèce typiquement diploïde comme la majorité de vertébrés (Mezhzherin, et al., 2012) *C. auratus* se produit sous deux formes : gonochorique et gynogenèse (Apalikova, et al., 2011).

### Système de production :

Le principal système utilisé pour l'élevage du carassin est la culture en étangs, mais les rizières sont également utilisées dans certaines régions de Chine (FAO, 2015).

### I.1.14 Production d'écloserie

Des géniteurs matures bien choisis sont mis dans les bacs, étangs, ou cages de ponte. L'injection hormonale est optionnelle puisque le poisson peut bien pondre sans intervention hormonale.

Pour une bonne éclosion, les œufs peuvent être placés dans de l'eau en circulation (raceway ou jarre). Le substrat avec les œufs attachés peut être simplement suspendu dans la colonne d'eau. Les alevins qui viennent d'éclore sont transférés dans les étangs de nurserie quand ils sont capables de bien nager et de se nourrir activement (FAO, 2015).

### I.1.15 Nurserie

La monoculture est la méthode normale pour le stade de nurserie. La densité de stockage est dépend de la durée de la période d'élevage (2-3 semaines, qui dépend à son tour principalement de la température d'eau) et de la taille demandée. la fertilisation organique est réalisée.

## **Généralités**

Les poissons atteignent normalement une taille d'environ 30 mm après 2 ou 3 semaines. Ils sont prêts pour le grossissement (FAO, 2015).

### **I.1.16 *Elevage de fingerlings***

Les fingerlings d'été ne sont pas prêts pour un stockage direct dans les étangs de grossissement. Ils ont besoin d'être élevés jusqu'à atteindre, des tailles plus grandes (6-7 cm ou plus) (FAO, 2015).

### **I.1.17 *Techniques de grossissement***

Les techniques de grossissement les plus communément adoptées sont la polyculture dans des étangs/enclos et dans des rizières. Le carassin est un poisson de fond avec une croissance relativement lente et une production qui peut être souvent assez limitée (FAO, 2015).

### **I.1.18 *Techniques de récolte***

La récolte à lieu à la fin de la période de culture, on procède, premièrement à un tri à une profondeur réduite d'eau, suivi par la récolte totale après avoir vidé l'étang (FAO, 2015).

## **Impacts**

- ***Sur le milieu naturel et les autres espèces présentes (positifs)***

N'étant pas très compétitif, ce poisson profite en fait du réchauffement des eaux et occupe la place laissée par la disparition d'espèces souffrant d'une dégradation de leurs habitats. (Bruslé, et al., 2013).

- ***Sur le milieu naturel et les autres espèces présentes (négatifs)***

Son régime herbivore peut entraîner une augmentation de la turbidité en cas d'effectifs abondants (Bruslé, et al., 2013).

Dans son habitat typique, il entre en compétition avec la carpe, la tanche, le rotengle, et, depuis quelques années en France la forme gynogénétique du carassin argenté (*Carassius auratus gibelio*) (Persat, 2001).

- ***Sur l'homme et ses activités (négatifs)***

En augmentant la turbidité de l'eau et en réduisant la végétation, il empêche la fraye des poissons élevés et pêchés (Bruslé, et al., 2013).

## Généralité

### Méthodes d'identification à l'échelle moléculaire

#### **I.1.19 Par l'électrophorèse des protéines**

L'électrophorèse protéique constitue une technique de choix, surtout parce que ses coûts sont modérés tout en permettant une analyse rapide d'un grand nombre d'individus. Cependant, son utilité est limitée à l'étude de plusieurs espèces qui démontrent une diversité génétique insuffisante pour permettre des études performantes de discrimination de populations (Magnusson, et al., 1987).

#### **I.1.20 Par analyse de l'ADN**

Les marqueurs génétiques utilisés pour l'application des méthodes génétiques, sont de 3 types:

- 1) ADN mitochondrial (ADNmt)
- 2) ADN nucléaire simple copie
- 3) ADN nucléaire satellite (ADN répétitifs).

Plusieurs caractéristiques de l'ADN mitochondrial en font un marqueur de choix pour l'étude populationnelle. C'est un petit génome de structure simple, que l'on retrouve dans la mitochondrie, présent en plusieurs copies identiques dans chaque cellule (1000-1000000 copies) et donc, facile à isoler.

Comparativement, à tout l'intérêt porté à l'étude de l'ADNmt au cours des dernières années, l'étude de la variabilité génétique de l'ADN nucléaire simple copie en a suscité bien peu, en particulier pour l'étude des populations de poissons.

Tandis que l'étude de la variation de l'ADN satellite (ADN répétitif) semble beaucoup plus prometteuse que l'analyse de l'ADN simple copie (Khazaal, et al., 2005).

#### **A. PCR (Polymerase Chain Reaction)**

La PCR est une technique permettant d'amplifier in vitro des séquences d'ADN par répétition de réactions d'élongation en présence d'une ADN polymérase et d'amorces nucléotidiques spécifiques (Denis, 1999).

La plupart du temps, la PCR sera suivie d'une analyse par électrophorèse du matériel amplifié. Les fragments obtenus sont séparés par migration sur gel d'agarose sous l'action d'un champ électrique (Khazaal, et al., 2005).

### **Généralité**

Le principe de l'amplification in vitro sur la répétition de trois processus (**Denis, 1999**) :

- 1) La dénaturation des deux brins d'ADN à température élevée (environ 95°C) afin d'obtenir des molécules d'ADN monocaténares
- 2) L'hybridation d'oligonucléotides (amorces) complémentaires d'une séquence de l'ADN monocaténaire cible (la température est alors ramenée une valeur comprise entre 40°C et 65°C afin de permettre une bonne fixation des amorces.
- 3) La réaction d'élongation par une ADN polymérase thermostable (la Taq polymérase) à partir des oligonucléotides, réalisée à la température optimale de 72°C.

#### ***B. L'empreinte génétique***

L'empreinte génétique désigne une technique permettant l'identification d'un individu à partir de l'ADN. Plus précisément, c'est l'image (matérialisée sous la forme d'un code-barres) de la répartition des zones non codantes de l'ADN qui constituent l'hérédité d'un individu. Cette image est la même pour l'ADN extrait de n'importe quelle cellule à noyau d'un individu et elle est caractéristique de celui-ci (**Hottois, et al., 2001**).

Vers le milieu des années 80, des marqueurs polymorphes, appelés des mini-satellites, ont été découverts. Ce sont des motifs de quelques dizaines de bases (typiquement entre 30 et 70), dont plusieurs unités se font suite à certains endroits dans le génome. Le nombre d'unités varie d'un individu à l'autre: c'est la base du polymorphisme.

Vers la fin des années 1980, la découverte d'un nouveau type de polymorphismes, les microsatellites, couplée à l'utilisation d'une nouvelle technique révolutionnaire, la PCR, a permis une nette avancée pour la réalisation d'empreintes génétiques. Les microsatellites comportent des séries de répétitions d'un motif de base court (1 à 4 paire(s) de bases) et sont répartis sur l'ensemble du génome. Le nombre de répétitions peut varier de 10 à 40 environ. Comme dans le cas des mini-satellites, le polymorphisme tient au nombre variable de répétitions d'unités observées dans les différents allèles. Chaque marqueur présente une dizaine d'allèles différents, parfois plus. Les séquences à analyser sont donc courtes et parfaitement adaptées à une révélation par la technique de PCR. Les différents allèles sont reconnus en fonction de leur taille, qui est mesurée en paires de bases d'ADN (**Khazaal, et al., 2005**).

#### ***C. Le polymorphisme de longueurs des fragments de restriction (RFLP)***

Le polymorphisme de l'ADN est utilisé comme marqueur génétique d'identification d'individus dans de nombreux domaines. Au sein d'une population, le polymorphisme, défini comme résultant de variation dans la séquence de l'ADN, se traduit soit par l'apparition de différents phénotypes, soit par des modifications des profils de restriction (**Denis, 1999**).

Le principe repose sur la comparaison de profils de coupure par les enzymes de restriction suite à l'existence d'un polymorphisme dans la séquence d'une molécule d'ADN par rapport à une autre.

### **Généralité**

De nombreuses méthodologies sont utilisées pour détecter un polymorphisme, comme par exemple :

- La technique de *southern* : les fragments de restriction sont hybridés avec une sonde constituée d'un fragment marqué d'ADN complémentaire d'une séquence spécifique de l'ADN.
- La réaction de PCR : une région spécifique de l'ADN est amplifiée, ce qui permet de visualiser les fragments de restriction de cette région, présents en grande quantité, après électrophorèse sur gel et coloration au bromure d'éthidium (**Denis, 1999**).

#### ***D. Séquençage de l'ADN***

Le séquençage de l'ADN, consiste à déterminer l'ordre d'enchaînement des nucléotides d'un fragment d'ADN donné (**Durand, et al., 2008**).

L'ADN à séquencer est appelé ADN matrice, il doit être obtenu sous forme purifié et être homogène (il ne doit contenir que des molécules d'ADN ayant la même séquence). On utilise couramment comme matrice de l'ADN cloné ou produit par PCR. Cet ADN simple brin est obtenu par dénaturation de la matrice d'ADN double brin via un traitement thermique ou alcalin (**Winter, et al., 2000**).

Le fragment d'ADN à séquencer (il peut s'agir par exemple d'un exon du gène d'intérêt) est obtenu par PCR puis mis en présence d'un milieu réactionnel contenant l'amorce à partir de laquelle un recopiage par une ADN polymérase sera réalisé, les 4 déoxynucléotides (A,T,C,G), les 4 didéoxynucléotides (ddA, ddT, ddC, ddG) marqués chacun par un fluorochrome distinct et une ADN polymérase (TaqDNA polymérase). L'ensemble est soumis à une succession de cycles de recopiage au cours desquels l'ADN polymérase peut, au niveau de chaque base de l'ADN matrice, incorporer un déoxynucléotide ou un didéoxynucléotide.

#### ***E. Barcode moléculaire***

Le code barre ADN est un outil standardisé pour une identification rapide, robuste et précise des espèces. Le fragment code-barre du génome doit avoir évolué suffisamment vite pour permettre de distinguer les espèces entre elles, tout en restant sensiblement identique entre membres d'une même espèce. Enfin, ce fragment doit être entouré d'ADN stable pour des raisons analytiques (pour pouvoir appliquer la PCR, méthode de répllication de gènes ciblés). la généralisation de l'usage de tels outils moléculaires, en se conformant à des normes et contrôles de qualité précis (le code-barre ADN est une séquence d'un gène convenu, rigoureusement standardisée, de taille minimale et de qualité, déposée dans une base de séquences significative, et associée à un spécimen-type dont l'origine et le statut sont enregistrés) peut permettre de dépasser les limites des méthodes plus conventionnelles et permettre d'identifier sans équivoque des individus entiers, des fragments, des œufs et des larves (**Gouletquer, et al., 2013**).

# Chapitre 2

## Matériels & Méthodes

## Matériels et Méthodes

## II. Matériels et Méthodes

### Présentation de la région d'étude

#### II.1.1 Béni Haroun

Le barrage de Béni Haroun est situé dans le nord de l'Algérie sur l'oued Kébir à une quarantaine de kilomètre de son embouchure dans la mer méditerranée (**Figure (5)**). La retenue créée par le barrage se trouve au sud de ce dernier, elle est située à environ 40Km au niveau NNW de la ville de Constantine et à 350 Km à l'est d'Alger (**Marouf, 2012**).



**Figure (5):** localisation du barrage Béni Haroun (image de Google Maps)

Il est le plus grand barrage du pays, érigé dans la région bien arrosée du Tell oriental, au Sud de laquelle se situent de grands centres urbains (Constantine, Batna, Khenchela...) et de vastes terres irrigables (Hautes Plaines semi-arides) qui ne peuvent être satisfaits par les ressources locales (**Mebarki, 2008**).

Matériels et Méthodes

II.1.2 Barrage d'Ain Zada

F. Situation géographique

Le barrage d'Ain Zada est situé dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj à 25 km à l'ouest de Sétif et à 40 km à l'est de B.B. Arreridj (**Figure (6)**). Il est implanté dans la commune d'Ain-Taghrout sur l'Oued Boussellam (direction Sud-Nord) au niveau de la jonction avec l'Oued Ain-Taghrout à l'ouest, l'Oued Kharoua au Nord-est et l'Oued Malah au Sud-est.



**Figure (6):** Localisation du barrage d'Ain Zada (Image de Google Maps)

C'est un barrage en remblai de type en enrochement avec un noyau central en argile, de 55 m de hauteur, Il est doté d'un évacuateur de crues sans organes de réglage et d'un coursier à ciel ouvert sur l'un des côtés de la digue.

Le barrage de Ain zada permettra actuellement d'emmagasiner un volume d'eau de 121,400 Mm<sup>3</sup> régularisant ainsi un volume 50Mm<sup>3</sup> par an, afin d'assurer les besoins en eau potable et industrielles des populations des villes en rapide expansion de la région notamment les villes de Sétif, Bordj Bou-Arreridj, El Eulma et Bougaa et d'autre commune (**Mebarkia, 2011**).

**Matériels et Méthodes**

**II.2 Matériel biologique**

Notre étude à portées sur des carassins pêchés(**Figure (7)**) à partir de deux sites (100 individus sont pêchés de Béni Haroun et 10 individus de Ain Zada), on a commencé par le barrage de Béni Haroun à Mila de 26-04-2015 au 29-04-2015 puis le barrage d'Ain Zada wilaya de Bordj Bou Arreridj, les carassins sont transportés et conservés dans des glacières.



**Figure (7):** Pêche, conservation et transport des spécimens.

**Analyse morphométriques**

L'analyse morphométriques aide à comprendre la relation entre les parties du corps(Carpenter, 1996).

La démarche la plus classique dans toute étude sur la base des critères morphométriques, est d'effectuer un relevé de valeurs de plusieurs variables quantitatives et / ou qualitatives quelconques(longueurs, dénombrement des rayons, ... ) sur un échantillon d'individus appartenant à une même espèce ou à des espèces différentes, et de réaliser par la suite une analyse de données afin d' accéder à l'information nécessaire permettant une interprétation plausible des phénomènes génétiques ou autres qui régissent ces populations (**Bouhadad, 1998**).

## Matériels et Méthodes

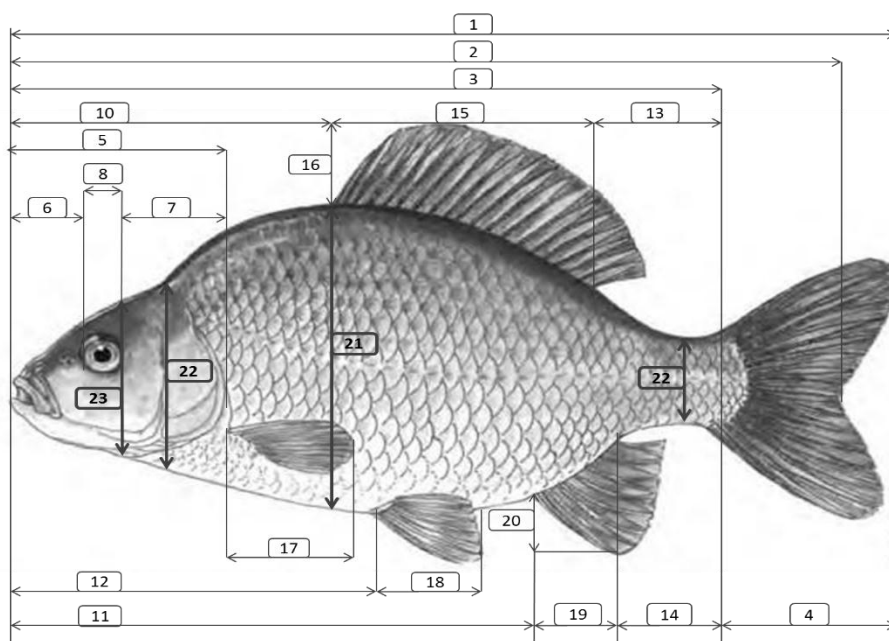
Les variables morphométriques portent deux types de caractères :

### II.2.1 Les caractères de mensurations (métriques)

C'est une partie de l'étude scientifique de la morphologie d'un organisme, consiste à déterminer les données métriques par les mensurations d'un spécimen (hauteur de corps, longueur de tête, etc.)(AquaPortail, 2007).

Chez les poissons, les principaux caractères utilisés pour la description et l'identification sont des attributs descriptifs, qui font référence aux caractères distinctifs (par exemple, la forme de la nageoire caudale), des mesures morphométriques, qui font référence à des variables numériques continues (par exemple, la longueur de la tête par rapport à la longueur du corps)(Shearer, 1994).

**La figure** ci-après illustre les axes selon lesquels les principales mesures peuvent être faites et le tableau suivant rapporte ces mesures en détail. On utilise généralement pour effectuer ces mensurations un pied à coulisse pour les petites mesures : Dey, Lt, Lpa....etc et ichtyomètre pour les grandes mesures : LT, Lf, Ls.



**Figure (8):** Mensurations effectuées sur les spécimens (les numéros d'ordre sur la figure représentent les caractères métriques étudiés)(Google image).

# Contribution à la Différenciation Morphométriques et Génétique de Carassin Commun (*Carassius carassius*)

## Matériels et Méthodes

**Tableau (1):** Numéros et abréviations des variables sélectionnées.

N° variable	Abréviation	Variable
1	<b>LT</b>	Longueur totale
2	<b>Lf</b>	Longueur à la fourche
3	<b>Ls</b>	Longueur standard
4	<b>Lnc</b>	Longueur de la nageoire caudale
5	<b>Lt</b>	Longueur de la tête
6	<b>Lpre</b>	Longueur de pré-orbitale
7	<b>Lpo</b>	Longueur de post-orbitale
8	<b>Doe</b>	Diamètre horizontal de l'œil
9	<b>Dey</b>	Distance entre les yeux
10	<b>Lprd</b>	Distance pré-dorsale
11	<b>Lpra</b>	Distance pré-anale
12	<b>Lprv</b>	Distance pré-ventrale
13	<b>Lpod</b>	Distance post dorsale
14	<b>Lpa</b>	Distance post anale
15	<b>Lnd</b>	Longueur de la nageoire dorsale
16	<b>Hnd</b>	Hauteur de la nageoire dorsale
17	<b>Hnp</b>	Hauteur de la nageoire pectorale
18	<b>Hnv</b>	Hauteur de la nageoire ventrale

## Contribution à la Différenciation Morphométriques et Génétique de Carassin Commun (*Carassius carassius*)

---

### Matériels et Méthodes

19	<b>Lna</b>	Longueur de la nageoire anale
20	<b>Hna</b>	Hauteur de la nageoire anale
21	<b>Hmax</b>	Hauteur maximale du corps
22	<b>Hmin</b>	Hauteur minimale du corps
23	<b>Hor</b>	Hauteur orbitale de la tête
24	<b>Hoc</b>	Hauteur occipitale de la tête
25	<b>Nrnp</b>	Nombre de rayons de la nageoire pectorale
26	<b>Nrnd</b>	Nombre de rayons de la nageoire dorsale

#### II.2.2 *Les caractères de comptages (méristiques)*

A côté de ses caractères métriques, une espèce possède également des caractères méristiques qui lui sont propres et qui permettent de la décrire et de la différencier d'une autre. Faisant référence à des variables numériques discontinues (par exemple, le nombre des rayons de la nageoire dorsale) (Shearer, 1994).

## **Matériels et Méthodes**

### **II.2.3 Méthodes statistiques**

Pour comparer les espèces pêchées des deux sites différents, nous avons utilisé deux approches :

1. Calcul des indices des différentes mesures relevées.
2. Analyse en composantes principales (ACP).

#### **A. Calcul des indices des différentes mesures relevées**

Comme la plupart des travaux de biométrie ((Andreu, et al., 1957), (Bouaziz, 2007); (Botros, et al., 1970), (Omoniy, et al., 2008)), les indices métriques des différentes mesures ont été calculés afin de comparer morphologiquement ces spécimens pêchés de deux barrages. A cet effet, les caractères relevés ont été exprimés en pourcentages :

1.  $(L_s / LT) * 100$
2.  $(L_t / LT) * 100$
3.  $(DOE / LT) * 100$
4.  $(L_{nd} / LT) * 100$
5.  $(L_{prd} / LT) * 100$

#### **➤ Comparaison des indices moyens des différentes mesures relevées**

L'application du test de comparaison de plusieurs moyennes, basé sur l'analyse de la variance, est nécessaire afin de définir la tendance de la moyenne de ces indices entre spécimens des deux barrages :

#### **Teste t|calde comparaison entre deux moyennes de chaque indice calculé:**

$$|t|_{cal} = \frac{|m_1 - m_2|}{\sqrt{\frac{s^2_1}{N_1} + \frac{s^2_2}{N_2}}}$$

#### **Avec:**

$m_1$  et  $m_2$  : les moyennes des indices de deux espèces comparées respectivement

$N_1$  et  $N_2$  : les effectifs

$S^2_1$  : variance de l'espèce de barrage 1

$S^2_2$  : désigne la variance de l'espèce de barrage 2

$S^2$  est donné par la formule :

$$S^2 = \frac{\sum (X_i - m_1)^2}{N - 1}$$

## **Matériels et Méthodes**

### ***B. Analyse en composantes principales (ACP)***

Les différentes mesures recensées sont soumises à une ACP, à l'aide du logiciel Statistica Version 5.

Analyse en composantes principales est une technique d'un échantillon appliqué aux données avec aucun regroupement entre les observations et aucun partitionnement des variables en sous-ensembles Y et X (**Rencher, 2002**).

La première composante principale est la combinaison linéaire de variance maximale; nous recherchons essentiellement une dimension le long de laquelle les observations sont au maximum séparée ou étalée. Le second composant principal est la combinaison linéaire de variance maximale dans une direction orthogonale à la première composante principale, et ainsi de suite(**Rencher, 2002**). Une synthèse de cette méthode est proposée par (**Hmida, 2005**).

Alors, Si un tableau de données comporte p variables quantitatives, nous dirons que les individus peuvent être représentés dans un « espace à p dimensions ». Il est inutile de préciser qu'il est impossible de « voir » dans un tel espace ! Aussi, le but de l'ACP est-il de trouver des « espaces de dimensions plus petites dans lesquels il soit possible d'y observer « au mieux » les individus. Pour des raisons évidentes de facilité de visualisation, les espaces retenus seront à 1 dimension (c'est-à-dire des droites) ou, et ce sera le cas le plus fréquent, à 2 dimensions (c'est-à-dire des plans) (**Philippeau, 1986**).

Les ouvrages de(**Rencher, 2002**) , (**Philippeau, 1986**), (**Casin, 1999**)présentent de manière détaillée la technique de l'analyse en composantes principales (ACP).

L'ACP s'applique à des données centrées réduites, la première opération va donc consister à calculer les moyennes et les écart-types des variables;Pour plus de 3 variables on parle d'hyperplan; A partir de ces moyennes et écart-types sont déterminées les variables centrées réduites qui constituent les colonnes du tableau X.

Le logiciel d'ACP calcule ensuite la matrice  $\frac{1}{n} * X'X$  c'est-à-dire la matrice des corrélations entre les variables, puis la matrice de corrélation diagonalisée, cette matrice admet des valeurs propres positive ou nulles.

Lorsqu'on effectue un changement d'axes en gardant la même origine (rotation) les nouvelles coordonnées sont données en fonction des anciennes et des composantes des vecteurs unitaires sur les nouveaux axes par des relations linéaires. Les contributions des nouvelles variables sont les valeurs propres et leur somme est toujours égale au nombre de variables.

Cependant, seules les premières valeurs propres ont un intérêt les autres correspondant à des étapes n'ayant qu'un faible pouvoir descriptif. Pour décider s'il y a lieu de retourner ou non un axe, il sera tenu compte à la fois du % cumulé de variance expliqué par l'axe, et de % cumulé de variance expliquée par cet axe et les précédents. Ces % peuvent être très différents d'une analyse à l'autre. Puis on peut tracer les cercles de corrélation et calculer les coordonnées des individus.

## **Matériels et Méthodes**

### **II.5 Extraction de l'ADN à partir de foie congelé**

L'extraction de l'ADN est une technique qui isole de l'ADN à partir d'une cellule en quantité et en qualité suffisante pour permettre son analyse.

Classiquement, les principales étapes de cette technique sont les suivantes :

#### **A. Destruction des tissus afin de libérer l'ADN du noyau**

- Disséquer les poissons, et prélever le foie puis peser chaque échantillon à l'aide d'une balance de précision (prendre la même quantité du foie dans tous les échantillons).
- Les échantillons sont broyés dans un mortier à l'aide de piston et mis en solution pour permettre l'homogénéisation des tissus et la solubilisation des cellules.
- Afin de lyser (détruire) les tissus et les cellules ; On rajoute du tampon à l'urée (Urée 8M, Tris 1M, EDTA 0.5M, Na Cl 5M, Acétate de Sodium 3M) à raison de 6ml pour 1g d'échantillon, qui permettent la dissolution des lipides des membranes cellulaires et leur solubilisation.
- Le mélange est transvasé dans des tubes coniques de 50ml puis ajouter 150µl de protéinase K (20 mg/ml), cette enzyme hydrolyse les protéines (coupure des liaisons peptidiques...).
- La préparation est agitée sur le rotor pendant 20 minutes puis les tubes coniques sont incubés toute la nuit dans l'étuve à 56°C. Au cours de cette étape, l'enzyme va digérer les protéines contenues dans la cellule, et notamment celles qui sont liées à l'ADN.

#### **B. Elimination des protéines et des peptides**

- Ajouter 5 ml de solution de phénol-chloroforme à chaque tube et agiter manuellement pendant 10 minutes, Mélanger par retournements successifs afin de faire précipiter les protéines qui se ressemblent sous une forme insoluble, l'ADN reste en solution dans la phase aqueuse qui est récupérée par centrifugation.
- Le mélange est centrifugé à 2500 tr/mn pendant 10 mn (Équilibrer soigneusement les tubes et centrifuger), la force centrifugeuse va séparer les constituants du mélange selon leurs densités, les débris cellulaires s'accumulent au fond du tube en un culot, la solution contenant l'ADN dissous forme le surnageant.
- Récupérer le surnageant et le transférer dans un tube conique propre de 50ml.

#### **C. Précipitation de l'ADN et purification**

- Ajouter au surnageant 2.5v de l'éthanol absolu et 1/10 de l'acétate de sodium (par rapport au volume de l'échantillon) afin de précipiter les acides nucléiques.

### **Matériels et Méthodes**

- On renverse lentement, on peut voir apparaître un filament blanc ou un amas (**Figure(9)**) correspondant à une méduse d'ADN.



**Figure (9):** l'apparition de la méduse d'ADN

- Les échantillons sont ensuite centrifugés à 2500 tr/mn pendant 5 mn
- Verser doucement le surnageant et laver le culot avec 7ml (selon le volume de la méduse) de la solution éthanol TE puis jeter le liquide sans jeter la méduse.
- Sécher l'ADN en laissant le tube renversé pendant une heure.
- Mettre de TE suivant la grandeur de la méduse.
- Agiter les échantillons dans un bain Marie toute la nuit.

#### **Conservation de l'ADN :**

L'ADN purifié est conservé au froid avant d'être analysé, soit à +4°C pour un stockage à court terme ou à -20°C pour un stockage à long terme.

Dans cette étape on va prélever 1ml de la solution et la verser dans des tubes Eppendorf pour la conservation des petits volumes (stock).

**Matériels et Méthodes**

**Contrôle de qualité de l'extraction et quantification de l'ADN par électrophorèse :**

**Préparation du gel d'agarose :**

- Préparation du gel d'agarose 0,8 % dans un tampon TBE (Tris Borate EDTA) 1X.
- Puis à l'aide d'une plaque chauffante, faire fondre l'agarose avec une agitation de temps à autre pour obtenir une solution homogène transparente et dépourvue de particules, puis ajouter du bromure d'éthidium (BET) (0.5 µg/ml).
- Laisser refroidir jusqu'à ce qu'il devienne possible de saisir le flacon à main nue (environ 45°C).
- Placer les joints fournis avec la cuve pour fermer le support de gel et positionner le peigne à 1 mm du fond et à environ 1 cm de l'extrémité du support. Régler le niveau pour que le support de gel soit horizontal.
- Couler lentement le gel sur 3 à 5 mm d'épaisseur en veillant à ce qu'il entoure bien les dents du peigne, Laisser refroidir, enlever le peigne et les joints.
- Le gel est prêt pour le dépôt des échantillons.

**Dépôt et migration :**

- Remplir la cuve du tampon TBE (1X) puis immerger le gel et son support.
- Insérer délicatement la pointe de la pipette et injecter directement la totalité des échantillons préparés dans les puits.
- Laisser migrer à 50v environ 30 minutes.
- Ampérage 254 nm.

**Visualisation :**

- Placer le gel sur la plaque UV et examiner les résultats après avoir enlevé délicatement le gel du support.

# Chapitre 3

## Résultats & Discussion

**Résultat et discussion**

### **III. Résultat et discussion**

#### **Analyse morphométrique**

Les différentes mesures relevées sur les individus sont regroupées dans l'**annexe I**.

##### **III.1.1 Calcul des rapports morphométriques**

Les indices morphométriques de cinq variables métriques ont été calculés pour les carassins des deux sites.

Les résultats obtenus figurent dans le (**Tableau(2)**) et mettent en évidence les faits suivants :

- ❖ Les moyennes de ces indices chez le carassin des deux barrages sont presque identiques, sauf la moyenne de l'indice Ls/Lt de Carassin d'Ain Zada est supérieur à celle de Béni Haroun.

**Tableau (2):** Fluctuation des moyennes des indices morphométriques entre les carassins de deux barrages.

Espèce Rapport morphométrique	Carassin d'Ain Zada	Carassin de Béni Haroun
Ls/Lt	M= 430,07 ±278,17	M= 403,21 ±78,63
Lt/LT	M= 18,61 ±12,04	M= 19,72 ±3,85
Doe/LT	M= 3,79 ±2,45	M= 4,24 ±0,83
Lnd/LT	M= 30,88 ±19,97	M= 29,77 ±5,81
Lprd/LT	M= 34,18 ±22,11	M= 34,09 ±6,65

##### **III.1.2 Caractères méristiques**

Les résultats consignés dans le (**Tableau (3)**) indiquent que la moyenne des rayons de la nageoire pectorale montre de variations importantes entre les carassins de deux sites. Nous pouvons conclure que ce caractère n'offre pas d'indications pertinentes dans la différenciation de carassin de deux sites.

Par contre, le second caractère méristique (nombre des rayons de nageoire dorsale) est conforme pour carassins des deux sites (20.5 et 20.6).

Afin de confirmer ces résultats un test de comparaison a été calculé.

## Contribution à la Différenciation Morphométriques et Génétique de Carassin Commun (*Carassius carassius*)

### Résultat et discussion

**Tableau (3):** Fluctuation de la moyenne des caractères méristiques

Espèce caractère	Carassin d'Ain Zada	Carassin de Béni Haroun
<b>Nrnp</b>	M= 14,7 ±0,41833745	M= 17,06 ±0,29
<b>Nrend</b>	M= 20,5 ±0,60234357	M= 20,67 ±0,77
<b>Effectifs</b>	10	100

#### III.1.3 Calcul du test de comparaison

L'application du test de comparaison de deux moyennes, basée sur la l'analyse de la variance, est nécessaire afin de définir la différence des moyennes de ces caractères retenus pour différencier ces spécimens.

Les résultats de la comparaison des spécimens des deux sites pour chacun des rapports morphométriques sont donnés dans le (**Tableau (4)**). Le *test t* a été comparé à 1.96 de la table de Student (les différences significatives sont indiquées en gras). L'examen de ce dernier montre qu'il existe une conformité entre les rapports {(Lt/LT)\*100, (Doe/LT)\*100, (Lnd/LT)\*100, (Lprd/LT)\*100, Nrend}, alors qu'il existe des différences significatives pour {(Ls/Lt)\*100, Nrnp}.

**Tableau (4):** Test de comparaison entre les deux rapports morphométriques de Carassins des deux sites.

Indice Espèce	(Ls/Lt)*100	(Lt/LT)*100	(Doe/LT)*100	(Lnd/LT)*100	(Lprd/LT)*100	Nrnp	Nrend
<i>Carassius carassius</i>	<b>5,022</b>	0,989	0,903	0,772	0,063	<b>9,073</b>	0,347

#### III.1.4 Analyse en composantes principales

Une analyse en composantes principales a été effectuée sur 110 observations et 26 variables.

Les trois premiers axes (**Tableau (5)**) expliquent 54,95% de la variation totale, c'est-à-dire l'essentiel de l'information est fourni par ces 3 premiers axes. On doit considérer pour notre analyse les axes I, II et III formant le plan factoriel I-II-III.

## Contribution à la Différenciation Morphométriques et Génétique de Carassin Commun (*Carassius carassius*)

### Résultat et discussion

Facteur	ValPropre	% Total Variance	Cumul ValPropre	Cumul %age
1	10,51523	40,44318	10,51523	40,44318
2	2,143535	8,244367	12,65876	48,68755
3	1,628381	6,263003	14,28714	54,95055

**Tableau (5):** Extraction des composantes principales et valeurs propres des 3 axes.

Les coefficients de corrélation entre les variables initiales et les axes principaux (**Tableau (6)**) mettent en évidence les contributions de chacune de ces variables dans la construction de ces axes.

**Tableau (6):** Contribution des variables à la formation des axes I, II et III

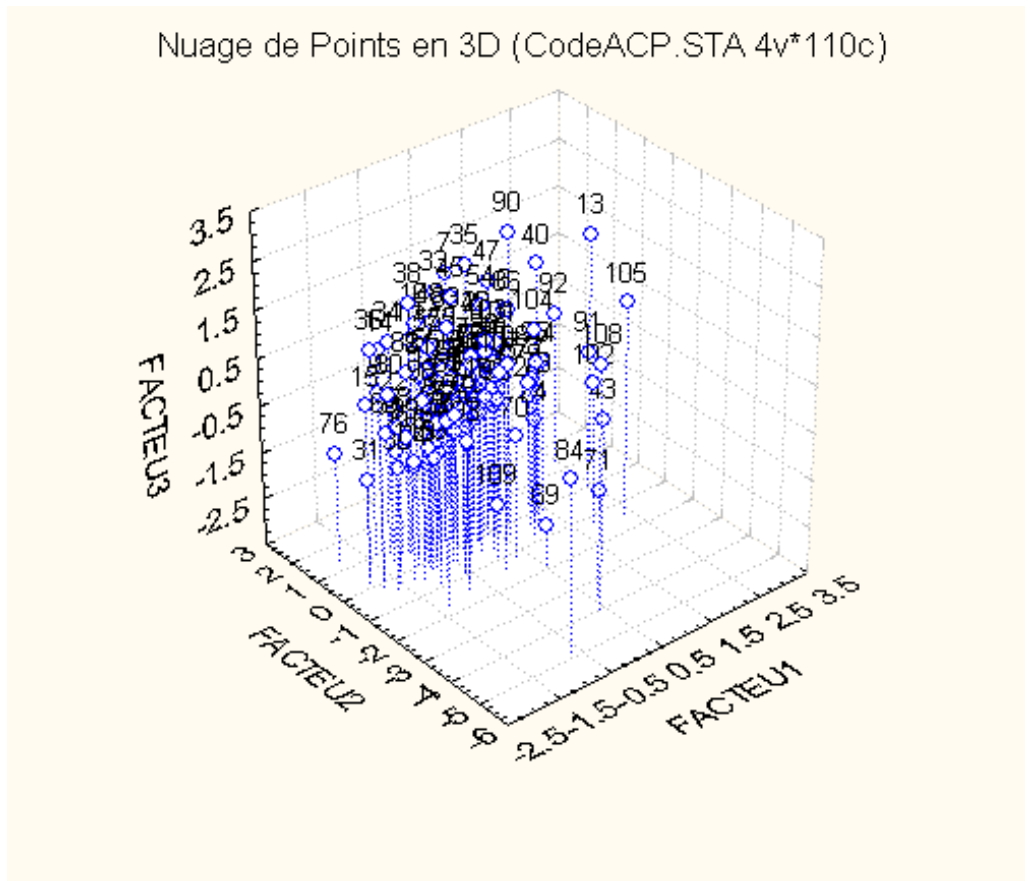
(Méthode d'extraction: Varimax brut)

	Fact.1	Fact.2	Fact.3
LT	<b>0,957198</b>	-0,03114	0,059207
Lf	<b>0,945806</b>	-0,06561	0,064088
Ls	<b>0,870527</b>	-0,05936	0,03017
Lnc	0,618609	0,052296	0,371187
Lt	0,621223	0,084778	0,457653
Lpre	0,078225	-0,01623	0,073797
Lpo	0,082321	0,213231	-0,25739
Doe	0,453355	0,07859	-0,68191
Dey	0,295129	-0,01021	<b>0,796991</b>
Lprd	<b>0,82056</b>	-0,18811	-0,00669
Lpra	0,539387	-0,01816	0,16925
Lprv	0,538861	0,041135	0,231846
Lpod	0,279889	<b>-0,77593</b>	-0,0033
Lpa	0,638229	-0,19485	-0,09444
Lnd	0,535416	0,583307	0,027138
Hnd	<b>0,71847</b>	0,238744	0,139682
Hnp	0,662122	0,3451	0,038501
Hnv	<b>0,819817</b>	0,150748	-0,00317
Lna	<b>0,709756</b>	-0,03195	0,06916
Hna	<b>0,744098</b>	0,227611	0,081447
Hmax	<b>0,748993</b>	-0,05654	-0,07317
Hmin	<b>0,847814</b>	0,03274	0,039166
Hor	0,586661	-0,05674	0,276109
Hoc	0,626453	0,025099	-0,16051
Nrnp	0,042507	0,581859	-0,06533
Nrend	0,01692	0,676972	-0,06682
Var Expl	10,37232	2,145035	1,769793
Prp. Tot	0,398935	0,082501	0,068069

Var.Exp: variance expliquée.



Résultat et discussion



**Figure (11):** Projection des individus de deux barrages dans le plan factoriel I, II et III

**Résultat et discussion**

**Extraction de l'ADN à partir de foie congelé**

**III.1.5 Le rendement**

Nous avons extrait de l'ADN génomique à partir du foie, les quantités du foie à analyser sont représentées dans le **Tableau (7)**.

**Tableau (7):** Quantité de foie à analyser

Echantillon	Quantité de foie (g)
Béni Haroun	6.45
Ain Zada	10.37

La méduse d'ADN observée lors de l'extraction (**Figure (12)**) à partir du foie du carassin pêché du barrage Ain Zada est plus importante que celle obtenue par l'extraction à partir du foie du carassin pêché du barrage Béni Haroun, cela s'explique par la différence de la quantité du foie utilisée.



**Figure (12):** Méduse d'ADN obtenue lors de l'extraction à partir du foie

**Résultat et discussion**

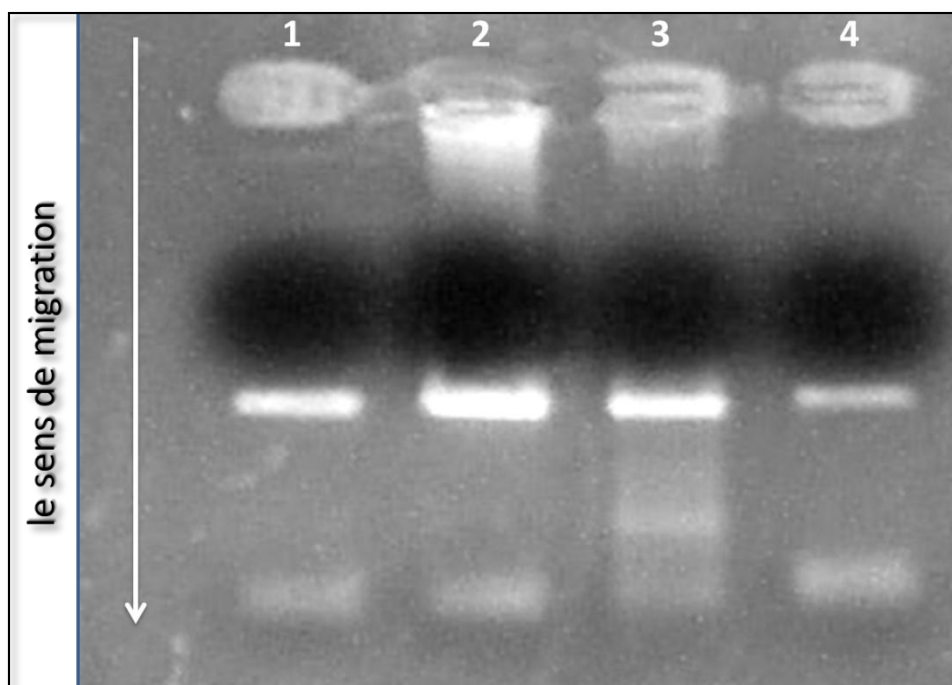
Des travaux similaires antérieurs ont été faits par (Dihia, 2008), (Hadjri, 2012), (Bouhali, et al., 2013) montrant que :

- La quantité d'ADN obtenu à partir du sang est relativement basse, cela pourrait être due à la quantité de sang utilisée.
- L'extraction à partir du foie est plus importante que celle obtenue par l'extraction à partir de l'intestin.
- L'extraction d'ADN à partir des organes frais donne un meilleur résultat que celle obtenue à partir d'un organe congelé ou à partir du sang.

**III.1.6 L'électrophorèse**

L'électrophorèse a été effectuée en utilisant des échantillons d'ADN de 50ng/μl.

La Figure (22) montre le résultat de l'extraction de l'ADN génomique pour *Carassius carassius* (Extraction de l'ADN à partir du foie congelé).



**Figure (13):** Visualisation sur gel d'agarose 0,8% de l'ADN génomique pour *Carassius carassius* (Piste 1-3 : carassin BH; Piste 2-4 : carassin AZ).

# Conclusion

## Conclusions

Les liens héréditaires entre individus, populations et espèces sont contenus dans le génome, ce qui permet de retracer les généalogies à différentes échelles de temps.

Amaintes reprises, l'utilisation de marqueurs génétiques a permis de découvrir de nouvelles espèces, de mieux comprendre les liens généalogiques entre organismes, de fournir des explications sur les mécanismes qui sont à la source de la diversification du vivant et de définir des stocks d'espèces menacées pour mieux les protéger.

La génétique et la biologie moléculaire sont de nouveaux outils qui complètent la connaissance que nous apportent les approches plus traditionnelles.

Les carassins n'ont pas fait l'objet d'une étude de variation génétique en Algérie, les références sont peu ou pas existantes,

Notre travail s'est inspiré de cette problématique qui nous a amené à aborder ce problème.

Après avoir échantillonné cette espèce à partir du barrage de Béni Haroun et du barrage de Ain zada et identifier morphologiquement nos espèces, nous avons entrepris une étude portant sur la différenciation morphométrique.

Nous avons aussi mis au point un protocole de l'extraction de l'ADN à partir du foie congelé.

L'analyse morphométrique a permis de confirmer que les deux barrages contiennent la même espèce de carassin (*Carassius carassius*).

Faute de moyens, on n'a pas pu entreprendre une analyse moléculaire sur cette espèce, alors La problématique qui reste posé et qui mériterait d'être prises en charge est la suivante :

*Les souches introduites accidentellement dans les deux barrages sont-elles pures ?*

Donc pour permettre une meilleure gestion de cette problématique, il serait intéressant de procéder aux techniques de biologie moléculaire afin d'entreprendre une étude de différenciation génétique complète sur cette espèces.

Référence

Bibliographique

## Référence bibliographique

- Allgayer, R. et al. (2007).** Encyclopedie visuelle de l'aquarium, p. 39.
- Andreu, B. et Pinto, J. (1957).** Caracteristicas histologicas y biometricas del ovario De sardina *S.pilchardus* en la maduracion, puesta y recuperacion, origen del os ovocitos. *Invest.pesquer*, p. 3-38.
- Apalikova, O. V. et al. (2011).** Phylogenetic Relationships of Silver Crucian Carp *Carassius auratus gibelio*, *C.auratus cuvieri*, Crucian Carp *Carassius carassius*, and common Carp *Cyprinus carpio* As Inferred from Mitochondrial DNA Variation. *Russian Journal of Genetic*, Vol. 47,p. 368-378.
- AquaPortail,(2007).** Morphométrie: définition. <http://www.aquaportail.com/definition-2780-morphometrie.html>.
- Barnabé, G. (1991).** Bases biologiques et écologiques de l'aquaculture. Paris : *Lavoisier*, p. 13.
- Bibliomer,(2010).** Extraction d'ADN. *Ifremer*. <http://www.bibliomer.com/>.
- Bibliomer,(1998).** Méthodes analytiques spécifiques produits de la mer. 3, p. 1-254.
- Billard,(1995).** les carpes: biologie et élevage.Paris : *INRA*. p. 17.
- Botros, G.A. El-Maghraby, A.M. et Soliman, I.A.M. (1970).** Biometrics studies in *Sardinella maderensis lowe* and *sardinella aurita* from the Mediterranean sea at Alexandria (U.A.R). *Bull. Inst. Oceanogr.Fisheries*.p. 85-128.
- Bouaziz, A. (2007).** La sardinelle *sardinella aurita* des cotes Algerienne :distribution,biologic et estimation des biomasses. Alger : *U.S.T.H.B.* p. 135.
- Bouhadad, R. (1998).** Génétique des populations de Barbeau (Genre *Barbus*; poissons *Cyprinidae*).Alger : Thèse de doctorat d'état *U.S.T.H.B.* p. 158.
- Bouhali, M.A. et Djendel, Y. (2013).** Contribution à l'étude de la différenciation morphométrique et génétique chez deux espèces de poisson marin à potentiel aquacole.Alger : *Enssmal*.p. 1-35.
- Breton, B. Gérard, R. et Gérard, T. (1999).** Tous les poissons d'eau douce. Leur peche et leur gestion. p. 58-59.
- Bruslé, J. et Quignard, J.P. (2013).** Biologie des poissons d'eau douce Européens. Paris: *Lavoisier*.p. 216-220.
- Burnard, D. et al. (2008).** The Role of Pheromones in Freshwater Fishes. *J Fish Biol.* Vol. 73, p. 1-16.
- Carpenter, KE. (1996).** Pattern and Feeding Mode in Emperor Fishes (*Lethrinidae*, *Perciformes*).p. 479-487. in: Marcus LF, Loy A, Naylor G, Slice DE *Advances in Morphometrics. Plenum Publishing, New York.*
- Casin, P. (1999).** Analyse des Données et des Panels de Données.Paris, Bruxelles. p. 32-61.

**Conti, C. Desvignes, T. et Didierlaurent, S. (2013).** Biologie et plongée - Faune et flore sous-marines et dulcicoles. *Doris* - *FFESSM*. [http://doris.ffessm.fr/fiche2.asp?fiche\\_numero=2552](http://doris.ffessm.fr/fiche2.asp?fiche_numero=2552).

**Cuivier, G. (1842).** Histoire naturelle des poissons. p.116.

**Daniel, Z. et al. (2011).** Influence of stocking density and type of feed on the rearing of crucian carp, *Carassius carassius* (L.), larvae under controlled conditions, Vol. 19, p. 1105-1117.

**Denis, T. (1999).** Principes des techniques de biologie moléculaire. Paris : *Institut national de la recherche Agronomique*. p. 57-111.

**Dihia, A. (2008).** Contribution à la différenciation morphométrique et génétique de *Tilapia* en Algérie. Alger: *Enssmal*. p. 1-38.

**Durand, G. et Beaudoux, J.L. (2008).** Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives. Paris : *Lavoisier*. p. 74.

**FAO, 2015.** FAO Fisheries & Aquaculture - Cultured aquatic species fact sheets - *Carassius carassius* (Linnaeus, 1758). [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Carassius\\_carassius/fr](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Carassius_carassius/fr).

**Georges, M. et et al. (1998).** DNA fingerprinting in domestic animals using four different minisatellite probes. *Cytogenet. Cell Genet*, Vol. 47, p. 127-131.

**Germain, L. (1925).** La Faune des Lacs, des Etangs et des Marais, p. 226.

**Gouletquer, Philippe et Gilles-oeuf, Philippe Gros. 2013.** Biodiversité en environnement marin. France : *Versailles cedex*. p. 40-42.

**Hadjri, A. (2012).** Contribution à l'étude de la différenciation morphométrique et génétique de deux espèces de *Tilapia* de la ferme aquacole Ezzahra. Alger: *Enssmal*. p. 1-48.

**Hamman. (2008).** Le journal de la communauté universitaire. *Journal*, Vol. 44, p. 4.

**Hmida, F. (2005).** Les Sélaciens de la côte Algérienne : biosystématique des requins et des raies ; ecologie, reproduction et exploitation de quelques populations capturées. Alger : U.S.T.H.B. p. 11-60.

**Holopainen, I.J. et Pitkanen, A. (1985).** Population size and structure of crucian carp (*Carassius carassius* (L)) in two small, natural ponds in Eastern Finland. *Ann. Zool. Fennici*, Vol. 22, p. 397-406.

**Hottois, G. et Missa, J.N. (2001).** Nouvelle encyclopédie de bioéthique: médecine, environnement, biotechnologie. Belgique : *Boeck Université*. p. 382.

**Khazaal, G. et al. (2005).** Contribution à la caractérisation systématique et génétique des poissons. *Université Libanaise*, p. 12-36.

**Kottelat, M. et Freyhof, J. (2007).** Handbook of European freshwater fishes. *Cornol suisse & Freyhof Berlin, Allemagne*. p. 646.

**Laurila, S. Piironen, J. et Holopainen, I.J. (1987).** Notes on egg development and larval and juvenile growth of Crucian Carp (*Carassius carassius*). Finland. p. 315-321.

- Luna, S.M. (2014).** Carassius carassius, Crucian carp : fisheries, aquaculture, gamefish, aquarium, bait. *fishbase*.  
[http://fishbase.org/Country/CountrySpeciesSummary.php?c\\_code=156A&id=270](http://fishbase.org/Country/CountrySpeciesSummary.php?c_code=156A&id=270).
- Magnusson, K.P. et Ferguson, M.M. (1987).** Genetic analysis of four sympatric morphs of Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, from Thingvallavatn, Iceland. *Env. Biol. Fishes*. Vol. 20, p. 67-73.
- Marouf, N. (2012).** Etude de la Qualité des Eaux et de Transport Solide dans le Barrage de Béni-Haroun (Mila), Son Impact sur l'Environnement de la Région. Biskra : *Université Mohamed Khider*, p. 35-36.
- Mebarki, A. Benabbas, C. et Grecu, F. (2008).** Le système "Béni Haroun" (Oued Kebir-Rhumel, Algérie): aménagements hydrauliques et contraintes morpho-géologiques. p. 37.
- Mebarkia, A. (2011).** Etudes des caractéristiques physico-chimiques des eaux de surface, cas du barrage de Ain Zada wilaya de Bourdj Bou-Argeridj. Annaba. p. 82-86.
- Meddour, A. et al. (2005).** Experimentations sur la reproduction artificielle de Sander lucioperca, *Hypophthalmichthys molitrix* et *Aristichthys nobilis* en Algérie. p. 63.
- Mezhzherin, S. V. et al. (2012).** Hybridization of crucian carp *Carassius carassius* (Linnaeus, 1758) in Ukrainian reservoirs and the genetic structure of hybrids. *Cytology and Genetics*, Vol. 46, p. 28-35.
- Moisander, H. (1991).** The fractional spawning of crucian carp in two different ponds in eastern Finland. Finland. p. 797-805.
- Omoniy, I.T. et Agbon, A.O. (2008).** Morphometric variations in *Sarotherdon melanotheron* from Brackish and Fresh Water Habitats in South-Western Nigeria. *West African Journal of Applied Ecology*, Vol. 12, p. 15-20.
- Persat, H. (2001).** Le carassin commun . In Atlas des poissons d'eau douce de France. *Université de Californie*, Vol. 47, p. 154-155.
- Philippeau, G. (1986).** Comment Interpréter les Résultats d'une Analyse en Composantes Principales?. *Service des études statistiques*, p. 5-47.
- Rencher, A.C. (2002).** Methods of Multivariate Analysis. Canada : *Acid-free paper*, p. 380-404.
- Rolf, P. (2010).** Crock of Gold: Seeking the Crucian Carp. Romford Royaume-Uni : *M Press (Media) Ltd*, p. 17-32.
- Shearer, R. (1994).** Transactional distance and dialogue in online learning. *Pennsylvania state University*, p. 1-5.
- Smartt, J. (2007).** Possible genetic basis for species replacement: preliminary results of interspecific hybridization between native crucian carp (*carassius carassius* (L.)) and introduced goldfish (*carassius auratus* (L.)). *Reabic*, Vol. 2, p. 59-62.

- Sollid, J. Weber, R.E. et Nilsson, G.E. (2005).** Temperature alters the respiratory surface area of crucian carp *Carassius carassius* and goldfish *Carassius auratus*. *The Company of Biologists*, Vol. 208, p. 1109-1116.
- Taggart, J.B et Ferguson, A. (1990).** Hypervariable minisatellite DNA single locus probes for the atlantic salmon, *Salmo salar* (L). *J. Fish. Biol*, Vol. 37, p. 991-993.
- Tarkan, A.S. et al. (2009).** Growth and reproduction of threatened native Crucian Carp *Carassius carassius* in small ponds of epping forest, south-east England, p. 797-805.
- Vornanen, M. Stecyk, Jonathan A.W. et Nilsson, G.E. (2009).** The anoxia-tolerant Crucian Carp (*Carassius carassius* L.). *Elsevier Inc*, Vol. 27, p. 397-434.
- Winter, P.C. Hickey, G.I. et Fletcher, H.L. (2000).** L'essentiel en génétique. p. 4.
- Wirgin, I.I. et Maceda, L. (1991).** Development and use of striped bass-specific RFLP probes. *J. Fish. Biol*, Vol. 39, p. 159-168.
- Wolnicki, J. (2005).** Intensywny podchoń wczesnych stadioń ryb karpioatych w warunkach kontrolowanych. *Arch Pol Fish*, Vol. 13, p. 5-87.

# Annexes

## Annexe (I)

N°	LT	Lf	Ls	Lnc	Lt	Lpre	Lpo	Doe	Dey	Lprd	Lpra	Lprv	Lpod	Lpa	Lnd	Hnd	Hnp	Hnv	Lna	Hna	Hmax	Hmin	Hor	Hoc	Nrnp	Nrnd
1	24,5	23,2	19,7	4,7	5,2	1,3	2,6	1,1	2,7	8,4	15	9	3,5	2,7	7,6	3,2	3,1	3,7	2	2,9	8,2	3,4	5,2	4,1	15	20
2	27,2	25,1	22	5	5,6	1,3	2,9	1,2	2,9	9,2	16,9	10	4,2	3,3	8,5	3,8	3,3	4,1	2,3	3,1	8,4	3,2	6	4	16	22
3	25,2	22,3	20	5,8	5,5	1,1	3	1,1	2,9	9	14,9	9,2	3,5	2,6	8	3,25	3,3	3,6	2,3	3,4	8,25	3,3	5,7	3,95	16	23
4	24,9	22,4	20	5,4	4,8	1,3	2,9	1,2	2,8	9,1	15	8,9	4,3	2,6	7,6	3,3	3,4	3,6	2,1	3,1	8,6	3,2	5,7	3,8	15	21
5	25,5	22,7	21	5,9	6	1,2	3,2	1,1	3	9,5	14,7	9,15	4,1	2,7	7,1	3,6	3,7	4,2	2,1	3,4	7,8	3,5	4,95	4,1	16	19
6	28,9	26,3	23,1	6,6	5	1,3	3,25	1	3,2	9,3	16,9	10,2	4,8	2,5	8,6	3,9	3,3	4,1	2,7	3,3	9,7	4	5,5	4,1	17	21
7	26,5	25	22	5,2	5,8	1,6	3	1,1	3,3	10	16,4	10,4	3,2	2,7	9,3	4,2	4,5	4,8	2,7	4,3	8,2	3,4	5,2	3,8	17	23
8	26,4	24	21,5	5,5	5,2	1,3	3	1,1	2,7	8,9	15,7	10	4,7	2,4	8,3	3,5	3,4	4	2,5	3	8,4	3,4	5,4	4	17	20
9	24,2	21,9	19,4	5,1	5	1,3	2,8	1	2,5	8,9	14,8	7,8	3,1	2,1	7,4	3,1	2,9	3,5	2,5	2,8	8	3,1	5	3,2	16	21
10	25,1	23	20,1	5,9	4,9	1,2	2,7	1	3	8,5	15	8,5	4,2	2,3	8,2	3,5	3,2	3,7	2,4	3,2	7,2	3,2	5,2	3,6	15	20
11	26,5	24,3	21,2	5,6	5,4	1	3,1	1,1	2,7	9	16,4	10,1	4,9	2,9	8,1	3,1	3,4	3,7	2,3	2,8	8,9	3,5	5,5	3,4	17	21
12	26,5	23,9	20,3	6,1	5,2	1,3	3,2	1,1	2,9	9	15,1	8,5	4,9	2,5	8	3,3	3,2	3,8	2,3	2,8	9	3,5	5,7	3,6	15	20
13	32	29,5	25,4	7,5	6,6	1,9	3,6	1,2	3,6	10,7	18,5	10,6	4,5	3,4	10	4,4	4,5	4,8	3,2	3,7	10	4,5	6	4,1	17	20
14	23,9	21,5	18,7	5,6	5,1	1,2	2,9	0,9	2,4	7,8	13,3	8,7	3,9	2,2	7,2	3,5	3,5	3,9	2,25	3,3	7,5	3,2	5,4	3,5	16	20
15	24,5	22,3	19,7	5,4	5	1,1	2,75	1	2,3	8,5	13,2	8,95	3,3	2,4	7,9	3,3	3,1	3,6	2,1	2,2	7,2	3,2	4,7	3,5	17	22
16	25,7	23,3	20,2	6,2	5,3	1,3	2,9	1	2,7	9	15,4	9,9	3,2	2,2	8,1	3,3	3,7	3,9	2,6	3,3	8,3	3,1	5,5	3,7	16	21
17	25,7	22,8	19,7	6,3	5,6	1,3	3,1	1,2	2,6	8,2	15,1	9,1	4,2	2,5	7,7	3,4	3,6	3,7	2	2,9	8,4	3,4	5,4	3,8	17	20
18	25,7	23,8	20,9	5,1	5,3	1,4	3,2	1,1	2,4	9,9	15,4	10	3,8	2,55	3,35	3,25	3,5	3,8	2,4	3,1	8,6	3,2	5,25	3,6	16	20
19	25,9	23,4	20,6	5,8	5,1	1,2	3,1	1,1	2,6	9,9	16,4	10,1	4,2	2,6	7,1	3,2	3,4	3,8	2,2	3,1	8,4	3,2	5,7	4	16	20

N°	LT	Lf	Ls	Lnc	Lt	Lpre	Lpo	Doe	Dey	Lprd	Lpra	Lprv	Lpod	Lpa	Lnd	Hnd	Hnp	Hnv	Lna	Hna	Hmax	Hmin	Hor	Hoc	Nrnp	Nrnd
20	28,4	25,6	21,9	7,1	6	1,4	3,3	1,2	2,5	9,3	16,4	10,1	4	2,8	8,7	4,2	3,9	4,5	2,7	3,7	8,6	3,6	5,3	3,25	17	21
21	25	21,9	19,3	6,1	5,1	1,2	2,8	1,2	2,5	8,9	14,4	9,1	3,8	2,6	7,3	3,3	3,6	3,7	2,5	3	8,3	3,5	4,95	3,6	16	20
22	24,8	22,2	19,7	6	5,1	1	2,9	1	2,15	8,2	13,8	8,5	4,4	2,45	7,3	3,1	3	3,5	2,2	2,8	7,5	3,1	5,1	3,5	17	21
23	27,9	25,6	22,6	5,55	5,2	1,1	3,1	1,3	2,5	9,75	16,9	10,1	3,85	2,35	8,25	3,5	3,6	4,05	2,5	3,05	8,7	3,7	5,55	3,75	17	21
24	28,3	25,8	22,25	5,9	5,2	1	3,1	1,3	2,5	9,8	16,65	9,95	4,1	3,05	8,1	3,85	4,2	4,7	2,3	3,6	8,6	3,4	5,55	3,7	17	20
25	27,6	25,2	21,2	6,3	4,7	11	2,9	1,1	2,2	9	15,6	8,7	3,9	3	8,7	3,7	4,1	4,6	2,35	3,45	9,3	3,6	5,9	3,5	16	21
26	28,1	25,7	22,2	5,7	5,2	1,1	3,25	1,2	2,35	9,25	16,5	9,45	4,2	2,4	8,5	4,2	4	4,6	2,4	3,65	7,7	3,4	4,85	3,6	17	22
27	28,4	25,6	22,3	6,1	5,8	1,2	3,25	1,3	2,5	9,4	16,8	9,8	3,8	3	9	3,8	4,3	4,8	2,45	3,8	8,6	3,6	5,4	4,1	17	22
28	29,5	27,1	23,9	5,9	5,6	1	3,6	1,3	2,4	10,3	17,3	10	4,3	3,15	9	4	4,2	4,8	3	3,65	8,7	3,8	5,65	4,3	18	23
29	24,3	22,4	19,7	4,7	5,1	1,2	2,8	1,1	2,15	8,1	14,4	8,6	3,7	2,5	7,7	3,2	3	3,5	2	2,9	8,1	3,1	4,95	3,9	16	21
30	24,4	22,7	20,1	4,9	4,7	1	2,7	1,2	2,1	8,1	14,8	8,2	3,3	2,6	8,2	3,2	3,3	3,6	2,6	2,8	8,2	3,3	4,9	3,65	17	22
31	23,4	21,2	18,4	5,2	4,2	1	2,6	1,2	2,1	7,9	14,1	8,1	3,2	2,3	7,6	3,1	3,4	3,6	2,1	2,9	7,9	3,1	4,9	3,8	17	22
32	26,1	24,1	21,4	5,1	5,2	1,2	3	1,2	2,2	9,1	16,4	9,6	3,9	2,3	7,9	3,2	3,6	3,9	2,1	3,15	8,1	3,4	5,1	3,8	17	21
33	28,1	26,05	21,9	6,2	5,9	1,3	3,4	1	2,7	9,3	16,1	10,2	3,4	2,7	9	3,7	3,9	4,15	2,55	3,3	8,6	3,55	5,6	3,8	20	23
34	25,1	22,6	19,4	5,9	5,2	1,1	2,8	1,05	2,9	8,5	14,2	8,3	3,4	2,65	7,25	3,3	3,6	4,1	2,4	3,2	7,75	3,25	5,2	3,3	19	20
35	29,45	25,6	22,4	7,2	5,6	1,15	3,2	1,1	3	8,6	16,25	10,2	3,6	2,95	9,1	4,5	3,9	4,45	2,9	3,7	7,75	3,7	5,8	3,6	18	20
36	24,9	22,6	19,5	5,2	4,9	1,4	2,9	1	2,6	8,35	14,8	9,4	3,2	2,4	8,35	3,4	3,7	3,85	2,7	3,05	7,8	3,1	5,15	3,2	18	23
37	25,6	23,2	20,4	5,1	5,4	1,4	2,9	1,05	2,4	9	15,2	9,9	5	2,75	7,05	3,7	3,4	3,65	2,6	3	8,4	2,9	4,9	3	16	21
38	25,9	23,8	20,4	6	5,8	1,25	3,3	1,1	3,2	8,5	15,4	9,4	3,5	2,3	8,3	3,6	3,6	3,8	2,45	3,1	8,3	3,4	5,1	3,4	17	21
39	25,9	23,4	20,5	5,2	5,3	1	3,1	1,3	2,3	9,5	14,6	9,3	3,9	2,8	7,9	3,5	3,3	3,7	2,35	3,1	8,3	3,4	4,9	3,2	16	23
40	30,9	28,9	24,2	6,9	6,5	1,4	3,6	1,1	3,1	10,6	18,3	10,8	4,7	3,7	7	4,3	4	4,7	2,8	3,7	9,8	3,8	5,8	3,3	22	23

N°	LT	Lf	Ls	Lnc	Lt	Lpre	Lpo	Doe	Dey	Lprd	Lpra	Lprv	Lpod	Lpa	Lnd	Hnd	Hnp	Hnv	Lna	Hna	Hmax	Hmin	Hor	Hoc	Nrnp	Nrnd
41	27,5	25,2	21,6	5,8	5,2	1,2	3,1	1,1	2,6	9,9	16,1	10	4,1	2,9	8,1	3,6	3,5	3,8	2,2	3,2	9	3,4	5,5	3,6	17	21
42	27,5	25,2	21,6	5,8	5,2	1,2	3,1	1,1	2,6	9,9	16,1	10	4,1	2,9	8,1	3,6	3,5	3,8	2,2	3,2	9	3,4	5,5	3,6	17	21
43	27,9	25,6	21,9	5,9	5,8	1,4	3,4	1,1	2,7	9,7	16,2	9,2	8,5	3,4	3,6	4,2	3,8	4,2	2,7	3,2	8,2	3,5	5,6	3,75	16	12
44	29,4	26,7	23,5	5,9	5,5	1,3	3,3	1,2	2,7	9,9	16,45	10,1	4,9	3,1	9	4,3	4,4	5,2	3,4	3,7	8,8	3,8	5,6	4,2	16	22
45	27,4	25,2	21,5	5,7	5,8	1,3	3,1	1	3	9,1	16,2	10	3,5	3	8,9	4	3,2	4,1	2,4	3,5	9	3,4	5,5	3,8	17	22
46	27,9	25,8	21,9	6,5	5,9	1,3	3,1	1,1	2,7	9,5	16,1	10	4,4	2,6	7,8	3,9	4	4	2,5	3,5	8,5	3,6	5,2	3,6	17	20
47	28,6	25,9	22,6	6,4	6,2	1,4	3,1	1,1	3	10,1	15,3	9,2	4,3	3	9	4,2	4,5	4,1	3,9	3,5	8,5	3,7	5,5	3,5	19	23
48	27,1	24,6	20,8	6,4	5,1	1,2	3	1	2,7	9,2	14,7	9,6	3,5	2,45	7,9	4,1	4,1	4,4	2,3	3,6	8,5	3,5	5,1	3,6	17	22
49	27,3	25,4	21,9	5,6	6,1	1,4	3,2	1,2	2,5	9,7	16,1	10,1	4,1	2,9	8,2	3,7	3,7	4,3	2,5	3,3	8,8	3,6	5,6	4,3	17	21
50	26,7	23,9	29	6,4	5,2	1,2	3,1	1,2	2,8	9,4	15,3	9,2	3,6	2,5	8,1	4,05	4,1	4,3	2,4	3,3	8,8	3,5	5	3,3	16	21
51	26,9	24,2	21,1	6	5,7	1,3	3,1	1,2	2,8	9,4	14,9	8,9	4,3	3	8,1	3,75	3,65	4,2	2,7	3,4	8,1	3,6	5,2	3,8	17	22
52	27,1	24,9	21,4	6	5,2	1,3	3,2	1	2,6	8,4	15	8,6	3,9	3	8,2	4,15	4,2	4,3	2,6	3,1	8,3	3,8	5	3,7	17	22
53	27,9	25,4	21,8	6,2	5,4	1,2	3,3	1,1	2,7	9,8	16,3	9,4	4,4	2,6	7,7	3,8	3,7	4,4	2,4	3,4	8,9	3,6	5,6	3,7	16	19
54	28,4	26	21,9	6,4	5,8	1,1	3,3	1,1	3,1	9	16,1	10,2	4,2	3,6	7,8	3,9	4	4,4	2,2	3,2	9	3,5	5,9	3,8	19	21
55	26,2	23,9	20,3	6	5,2	1	3,1	1,1	2,6	8,9	16,1	8,6	4	2,7	8,1	3,95	3,5	3,9	2,3	3,3	8,1	3,2	5,1	3,4	16	22
56	27	24,9	21,6	5,9	5,1	1,2	3,1	1,1	2,5	8,7	17,3	9,8	4	2,5	8,8	3,6	3,7	4	2,4	3,25	8,3	3,6	5,3	4	17	23
57	27,1	23,8	21,2	5,8	5,1	1,1	3	1	2,6	8,7	15,1	8,7	3,8	2,9	8,4	3,9	4	4,3	2,1	3,4	8,95	3,6	5,2	3,4	17	23
58	25,5	23,4	20,3	5,4	5,2	1	3,1	1,25	2,1	8,45	15,4	9,3	3,6	2,9	8,05	3,5	3,5	4,1	2,4	3,2	8,6	3,7	5,2	3,8	18	22
59	25,7	23,4	20,7	4,9	5,2	1,2	3	1,2	2	9,3	15,8	9,7	4,5	2,7	7,25	3,4	3,45	3,9	2,2	2,95	7,9	3,2	5,1	3,55	18	22
60	25,1	22,7	19,7	5,2	5,35	1,2	2,95	1,2	2,1	8,8	10,15	8,8	2,9	2,45	7,75	3,8	3,5	3,9	2,4	3,3	7,7	3,2	4,7	3,4	17	22
61	25,6	23,2	20,4	5,2	4,8	1,2	2,9	1,2	2,2	9,4	15,7	9,6	3,4	2,35	7,75	3,2	3,3	3,9	2,3	3	8,3	3,4	5	3,5	16	21

N°	LT	Lf	Ls	Lnc	Lt	Lpre	Lpo	Doe	Dey	Lprd	Lpra	Lprv	Lpod	Lpa	Lnd	Hnd	Hnp	Hnv	Lna	Hna	Hmax	Hmin	Hor	Hoc	Nrnp	Nrnd
62	27,2	24,6	21,2	5,65	5,3	1,1	3,2	1,25	2,1	9,9	16,6	10,1	3,8	2,3	7,9	3,6	3,5	4,25	2,2	3,1	8,3	3,5	5,2	3,7	17	22
63	27,6	24,4	21	6,4	5,2	1,2	3	1,2	2,1	9,4	15,6	9	3,7	3,05	8,45	4,4	4,3	4,9	2,5	3,6	9	3,8	5,1	3,6	20	25
64	28,3	25,8	22,2	6,4	5,7	1,2	3,4	1,3	2,4	9,9	16,5	9,8	3,6	3,1	9,3	4,4	4,1	4,5	2,7	3,7	9,2	3,75	5	4	17	23
65	26,6	23,9	20,6	6	5,1	1	3	1,2	2,1	9,1	15,5	9	3,8	2,65	8,25	3,8	3,75	4,35	2,6	3,2	8,3	3,45	4,9	3,6	18	22
66	28,2	25,4	21,8	6,2	5,8	1,4	3,3	1,3	2,3	9,6	16,6	10,2	3,6	2,4	8,6	4	4,1	4,6	2,6	3,6	8,35	3,7	5,2	4,05	18	22
67	27,4	24,6	21,7	5,7	5,5	1,1	3	1,2	2,4	9	16,4	9,9	3,5	2,6	9,2	3,95	3,6	4,1	2,7	3,4	9,1	3,85	5,2	3,9	18	24
68	25,3	22,9	19,8	5,5	4,8	1,1	3	1,2	2,2	8,2	14,8	8,4	3,3	2,2	8,2	3,7	3,6	4,1	2,1	3,2	8,1	3,4	5,1	3,5	16	22
69	28,5	25,9	23,1	5,2	3,5	1,2	3,45	1,3	2,2	10,2	18,3	9,8	6,6	2,95	6,6	3,7	3,4	3,95	2,8	3,4	9,6	3,6	5,3	3,7	19	20
70	28,2	25,7	21,9	6,2	5,1	1,4	3	1,2	2	9,3	17	10,1	3,6	2,6	8,3	3,8	4,1	4,5	2,5	3,4	8,5	3,5	5,2	3,9	17	2,3
71	28,8	26,2	22,1	6,3	5	1,2	2,95	1,2	2,2	9,3	16,65	10,2	7,6	3,6	5,1	3,7	3,7	4,6	3	3,55	8,6	3,4	4,8	3,7	14	14
72	28,2	25,7	21,6	6,6	5,9	1,25	3,4	1,2	2,4	9,7	16,4	9,8	3,9	2,2	8,4	3,95	3,7	4,4	2,4	3,3	8,3	3,9	5,6	4,25	19	20
73	29,8	26,5	23,2	6,4	5,4	1,2	3,4	1,2	2,5	10,1	17,7	10,4	4,9	3,1	8,9	3,7	3,9	4,4	2,7	3,8	9,3	3,8	5,5	4,7	17	22
74	30	27,1	24,5	5,3	5,4	1,1	3,3	1,2	2,3	9,6	17,9	10,7	5,7	3,2	8,8	3,9	3,9	4,25	2,75	3,3	9,1	3,7	5,2	3,8	17	22
75	27,2	24,3	21,1	5,8	5,3	1,4	3	1,2	2,2	9	16,4	9,9	4	2,4	7,6	3,9	3,65	4,4	2,3	3,6	8,1	3,3	5,3	3,9	15	21
76	23,8	21,4	18,5	4,9	4,3	1	2,4	1,1	1,9	7,9	14,2	8	2,9	2,4	8,2	3,5	3,6	3,1	2,1	2,9	8,1	3,1	4,7	3,3	19	24
77	29,5	26,6	23,1	6,2	5,9	1,4	3,6	1,2	2,4	9,8	17,4	10,3	4,2	3,6	9	4,15	4,1	4,5	2,8	3,5	9,8	3,6	5,6	4,4	17	22
78	27,8	25,4	21,3	6,9	5,5	1	3,2	1,2	2,4	9,8	16,4	10,1	3,3	2,6	9,1	4,2	3,6	4,4	2,7	2,8	10,45	3,7	5,5	3,9	19	23
79	30,3	27,8	24,5	5,75	5,7	1,2	3,5	1,2	2,3	10,2	18,4	10,7	4,2	2,5	8,85	3,7	3,9	4,3	2,9	3,2	8,9	3,8	5,8	4,2	17	20
80	24,8	21,2	19,2	6,1	4,5	1,3	2,9	1,05	2,2	7,9	14,2	8,5	3,45	2,6	7,5	3,95	4,3	4,4	2,1	3,55	8,5	3,35	5	3,6	17	23
81	26,7	25,1	21,4	5,2	5,2	1,4	3,2	1,05	2,5	9,3	15,6	9,2	3,5	2,7	8,9	3,65	3,5	4,1	2,2	3	8,2	3,4	5,05	3,4	18	21
82	26,2	23,9	19,4	6,3	5,1	1,3	3	1,1	2,5	8,5	15,5	8,9	3,95	2,45	8,1	3,7	3,8	4,2	2,1	3,1	8,5	3,1	5	3,3	18	21

N°	LT	Lf	Ls	Lnc	Lt	Lpre	Lpo	Doe	Dey	Lprd	Lpra	Lprv	Lpod	Lpa	Lnd	Hnd	Hnp	Hnv	Lna	Hna	Hmax	Hmin	Hor	Hoc	Nrnp	Nrnd
83	26,9	24,1	20,9	6,4	5,5	1,4	3,3	1,05	2,7	9,7	15,8	9,6	4	1,9	7,8	4,1	4,2	4,6	2,2	3,5	8,9	3,6	5	3,5	16	20
84	25,9	23,4	19,8	5,7	5,1	1,3	3	1,05	2,3	10,1	15,1	8,6	6,1	2,5	5,1	3,4	2,95	4,2	2,4	3,15	9	3,5	5,1	3	11	0
85	27,2	25,1	21,1	5,6	5,1	1,2	3	1,2	3,1	9,4	16,6	9,9	3,6	2,6	8,6	3,5	3,7	4,1	2,4	3,1	8,2	3,4	5,8	4,3	18	0
86	28,9	26,4	22,7	6,5	5,8	1,3	3,3	1,1	2,9	10,1	16,6	9,9	4,9	2,7	8,1	3,9	4,8	4,4	2,6	3,8	9,1	3,6	5,7	3,9	17	22
87	24,5	22,6	18,9	5,8	5,3	1,7	3	1,1	2,4	7,8	14,8	8,7	6,4	2,3	4,7	3,4	4,05	4,1	2,25	3,2	7,7	2,9	5,1	3,3	16	17
88	28,9	26,9	22,4	6	5,5	1,3	3,1	1,1	2,8	8,8	16,6	9,1	4,8	3,7	9	3,9	4,1	4,2	2,4	3,3	8,4	3,7	5,2	3,7	18	21
89	29	26,7	22,8	6,1	5,4	1,2	3,1	1,2	2,9	9,6	16,4	9,5	3,9	3,1	8,75	3,6	3,8	4,3	2,5	3,35	9,4	3,5	5,6	4	18	21
90	31	26,8	23,4	6,8	6,2	1,5	3,5	1	3,2	9,8	17,6	10,9	4,2	2,5	9,1	4,4	4,2	4,9	2,6	3,9	9	3,9	5,6	3,9	16	22
91	32,3	29	25,3	6,7	5,9	1,4	3,7	1,4	2,55	10,4	18,8	10,9	4,5	3,1	11,05	4,9	4,4	5,45	3,1	4,15	10,1	4,4	6,2	4,7	17	23
92	32,9	29,2	25	7,45	6,3	1,7	3,9	1,3	2,6	11,4	19	11,5	3,8	3	11,6	3,7	4,9	5,25	2,6	4,8	10,6	3,6	5,6	4,1	18	22
93	27	24,9	21,2	5,9	4,9	1	2,9	1,3	2,3	8,9	16,8	9,4	4,1	3,3	7,35	3,6	3,9	4,2	2,3	3,2	8,5	3,3	5,6	4,1	19	22
94	26,5	23,7	20,3	6,05	4,8	1	31	1,3	2,3	9,1	16	9	2,9	2,7	8,2	3,8	4,05	4,2	2,6	3,55	8,8	3,4	5,4	3,7	19	23
95	30,4	27,3	23,7	6,7	5,6	1,1	3,4	1,2	2,6	9,8	18,1	10	4,8	3,4	8,9	3,9	4,1	4,7	2,8	3,7	8,8	3,9	5,6	4,2	18	21
96	29,2	26,3	22,8	6	5,5	1,15	3,15	1,3	2,4	9,5	17,2	10,4	4,3	3	8,8	3,8	3,9	4,65	2,8	3,35	8,4	3,6	5,4	3,9	18	22
97	27,7	24,7	21,4	5,6	5,3	1,25	3,1	1,2	2,1	9,6	16,4	9,7	3,8	2,8	8,3	3,8	3,65	4,3	2,4	3,3	8,7	3,4	5,4	3,8	19	22
98	26,5	23,7	20,5	5,6	5,1	1,1	3	1,1	2,3	8,8	15,9	9,3	3,7	2,6	7,9	3,45	3,65	4,1	2,3	3,2	8,1	3,4	5,1	3,95	18	22
99	25,5	23,4	20,3	4,9	5,1	1,2	2,8	1,2	2,1	8,6	15,3	8,7	3,4	2,7	8,1	3,5	3,4	3,9	2,1	3,2	8,1	3,2	5,3	3,7	18	23
100	26	25,6	21,9	6,3	5,3	1,15	3,3	1,25	2,25	9,4	17,2	10	3,1	2,8	8,2	3,8	4,1	4,5	2,6	3,5	8,9	3,8	5,7	4,1	16	20
101	30,9	27,3	24,4	6,4	5,8	1,6	2,1	1,2	2,4	9,6	17,6	11,45	3	2,95	10,05	4,2	4,1	4,4	2,9	3,7	8,4	3,65	5,05	3,9	16	21
102	32	28,6	25,3	6,35	5,75	1,3	3,6	1,2	2,5	10,75	18,9	10,8	5,3	3,1	9,6	4,2	3,7	4,65	2,85	3,75	9,6	4,1	5,3	4,2	14	20
103	28,7	26,2	22,7	5,8	5,4	1,2	3,15	1	2,45	10,1	16,55	10	3,35	2,6	9,2	3,85	3,95	4,4	2,7	3,7	8,85	3,7	5,45	3,95	15	21

N°	LT	Lf	Ls	Lnc	Lt	Lpre	Lpo	Doe	Dey	Lprd	Lpra	Lprv	Lpod	Lpa	Lnd	Hnd	Hnp	Hnv	Lna	Hna	Hmax	Hmin	Hor	Hoc	Nrnp	Nrnd
104	30	27	24,1	6,9	5,7	1,25	3,2	1,1	2,55	10,5	17,3	10,7	3,9	2,5	9,1	4,1	4,1	4,7	2,9	3,8	9	3,8	5,4	4	14	19
105	32,2	29,8	26,7	10,4	6,3	1,3	3,6	1,2	2,8	11,1	19,1	11,2	4,9	4	9,8	3,7	3,55	4,3	3,1	3,5	9,5	4,2	5,6	4,3	14	21
106	28,9	25,8	22,6	5,7	5,3	1	3,25	1,1	2,55	10,3	16,4	10,45	4,2	2,85	8,2	4,2	4,3	4,8	2,6	3,5	8,5	3,7	5,25	3,65	15	19
107	29	26,6	23,5	5,15	5,05	1,05	3	1,05	2,5	9,6	17,4	10,3	4,15	2,75	9	4,5	4,25	4,3	2,7	3,35	9,5	3,6	5	3,7	15	20
108	32	28,7	25,6	5,8	5,9	1,4	3,3	1,2	2,75	10,8	19,3	10,9	4,15	3,95	9,85	4,05	4,05	4,6	2,8	3,6	9,9	4,3	5,85	4,65	14	21
109	28,9	26,3	23,3	4,75	5,6	1,15	3,3	1,15	2,3	1	1,69	1,01	4,55	3,55	8,95	3,6	3,85	4,05	2,6	3,3	9,7	3,75	5,15	3,9	15	21
110	26	23,8	20,7	4,9	4,8	1	2,8	1,1	2,2	9,2	1,5	9,3	3,6	2,9	8,4	3,2	3,9	4,1	2,25	3,1	7,9	3,3	4,85	3,7	15	22

## Annexe (II)

**Tableau (8):** coordonnées des individus dans le plan factoriel I-II-III

	FACTEU1	FACTEUR2	FACTEU3
1	-1,16525	-0,51364	0,129551
2	0,011127	-0,43498	0,396507
3	-0,83277	0,162251	1,067697
4	-0,87242	-0,74172	-0,00512
5	-0,50598	-0,29216	1,029387
6	0,455029	-0,47453	1,454758
7	0,413267	1,562214	1,483524
8	-0,45005	-0,3932	0,404293
9	-1,79847	-0,13901	0,634675
10	-1,29797	-0,34121	1,551708
11	-0,52994	-0,78397	0,573073
12	-0,63222	-1,15467	0,86135

13	2,46463	0,041752	1,923245
14	-1,62856	0,115692	1,33083
15	-1,85942	0,235758	0,256499
16	-0,83188	0,364601	1,43201
17	-0,84285	-0,04805	0,311704
18	-0,7984	-1,47496	-0,05131
19	-0,57181	-0,86527	0,374247
20	0,474254	0,546233	0,614032
21	-0,90371	-0,27705	-0,27617
22	-1,65102	-0,43407	0,306179
23	0,155851	-0,10668	-0,73589
24	0,547621	0,047549	-0,81346
25	0,212762	-9,3E-05	0,017494
26	0,041766	0,670083	-0,54149
27	0,771612	0,757932	-0,66575
28	1,397144	0,3941	-1,15818

29	-1,52122	-0,22278	-0,67646
30	-1,2227	0,288092	-1,40025
31	-1,73311	0,490092	-1,45933
32	-0,65446	0,038427	-0,8621
33	0,061663	1,268064	1,38135
34	-1,20622	0,591412	1,147365
35	0,491136	0,974107	1,821742
36	-1,33929	1,015332	0,891496
37	-1,02872	-0,8712	0,433163
38	-0,82879	0,590307	1,765414
39	-0,67229	-0,16187	-1,12718
40	1,512421	0,281084	1,654384
41	-0,16494	-0,3546	0,291571
42	-0,16494	-0,3546	0,291571
43	0,413706	-3,99019	0,517834
44	1,453606	-0,04745	-0,25261

45	-0,1048	0,405725	1,621455
46	0,124909	-0,04317	1,004169
47	0,825672	0,792774	1,415377
48	-0,28654	0,829532	1,03402
49	0,416753	-0,09806	-0,14246
50	0,192983	0,225303	0,160976
51	-0,01755	0,034719	0,200129
52	-0,19657	0,548429	0,558963
53	0,178493	-0,59253	0,617817
54	0,372514	0,17511	1,337756
55	-0,71749	0,121408	0,494298
56	-0,24443	0,455577	0,15344
57	-0,3973	0,652192	0,597942
58	-0,40331	0,474015	-1,33466
59	-0,79099	-0,24407	-1,18053
60	-1,13318	0,891116	-0,91658

61	-0,87515	-0,15427	-0,96994
62	-0,2092	0,117748	-1,02306
63	0,468469	1,60176	-1,07063
64	0,944657	0,892451	-0,96782
65	-0,31122	0,608306	-1,01833
66	0,552939	1,02136	-0,73624
67	0,193629	1,016474	-0,44868
68	-1,00084	0,677842	-0,78022
69	0,53211	-1,82638	-2,6414
70	0,319628	-1,11985	-0,91595
71	0,620271	-3,56152	-1,2476
72	0,406271	0,621618	0,066077
73	1,224088	-0,30242	-0,71462
74	0,912943	-0,74735	-1,00305
75	-0,16805	-0,09448	-0,49422
76	-1,90195	1,363293	-1,17484

77	1,297788	0,05372	-0,59375
78	0,547233	0,898	-0,28231
79	1,053718	-0,28807	-0,45853
80	-0,94117	1,146644	-0,29446
81	-0,63187	0,518655	0,235101
82	-0,88712	0,607681	0,37034
83	-0,16831	0,394738	1,048152
84	-0,63785	-4,7859	0,132644
85	-0,03538	-1,39533	0,608068
86	0,844674	0,116976	1,042812
87	-1,27802	-1,63672	0,386908
88	0,376291	0,027493	0,386549
89	0,561662	0,112548	0,074751
90	1,091772	0,562441	2,379657
91	2,934433	0,838881	-1,09151
92	2,510215	1,410875	-0,25755

93	0,051269	0,155245	-1,38036
94	0,095135	2,287919	-2,77932
95	1,342668	-0,05929	-0,22136
96	0,738807	0,285618	-0,87501
97	0,046021	0,545943	-0,96486
98	-0,61983	0,485192	-0,33131
99	-0,88008	0,652792	-1,05903
100	0,532076	0,328643	-0,74095
101	1,022966	0,847813	0,017675
102	1,855564	-1,18601	-0,49175
103	0,477734	0,225191	0,540809
104	1,161059	-0,27805	0,623735
105	2,375489	-1,44023	1,068535
106	0,624833	-0,3333	0,14479
107	0,562753	-0,11685	-0,0459
108	2,212839	-0,8529	-0,36978

109	0,082019	-0,89095	-2,35581
110	-1,01535	0,060837	-1,27191

## **Annexe (III)**

### **EDTA 0,5 M pH 8 (500ml)**

- H<sub>2</sub>O 300ml
- EDTA 93,05g
- Ajouter du NaOH 10 N jusqu'à pH 8 et ajuster le volume à 500ml

### **TRIS 2M, pH 7,4 (1litre)**

- H<sub>2</sub>O 850ml
- Tris base 242,2g
- HCl 75ml
- Vérifier le pH et régler le volume.

### **L'urée 8M**

- Dissoudre 480 g d'urée dans 1L d'eau distillée

### **NaCl 5M**

- Dissoudre 292.2g dans 1 litre d'eau distillée

### **Protéinase K, 20mg/l (5ml)**

- 5ml d'eau distillée stérile
- 100mg protéinase déshydratée

### **Bleu de Bromophénol (20ml)**

- 50 % glycérol
- 1 % SDS
- % bleu bromophénol
- 0.1 M EDTA

### **Solution Ethanol T.E**

- Mélanger 80% d'éthanol avec 20% de T.E et garder à -20°C

### **Solution d'acétate de sodium 3 M pH 7,4 (pour 100 ml)**

- Acétate de sodium 40,8 g
- H<sub>2</sub>O 80 ml
- Ajuster le pH avec l'acide acétique, puis autoclaver
- Ajuster le volume à 100 ml et autoclaver.