



## RAPPORT DE STAGE

### **Apport de la morphométrie géométrique dans la détermination des espèces du sous-genre *Gerbillus* du Nord Ouest de l'Afrique**

**Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)  
Laboratoire Comportement & Ecologie de la Faune Sauvage (CEFS)**

---

**HELESCHEWITZ Deborah**

Année universitaire 2016-2017

**Tuteur de stage** : Monsieur Yannick CHAVAL, Assistant ingénieur

**Enseignant référent** : Monsieur Stéphane AULAGNIER, Biologiste de la Conservation

**Etablissement / Formation** : Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne 31062  
TOULOUSE / Master 1 Biodiversité Ecologie Evolution

**Organisme d'accueil** : 24 chemin de Borde-Rouge - Auzeville CS 52627 31326  
CASTANET-TOLOSAN CEDEX



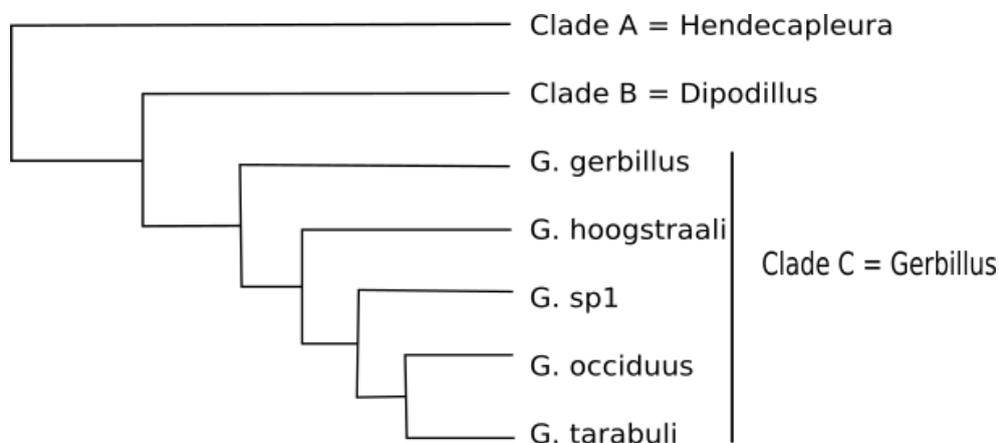
# Sommaire

<b>Sommaire</b>	<b>1</b>
<b>I.Introduction</b>	<b>2</b>
<b>II.Matériel et Méthode</b>	<b>4</b>
<b>1.Sites d'études et espèces étudiées</b>	<b>4</b>
<b>2.Préparation des objets biologiques</b>	<b>5</b>
<b>3.Traitement des prises de vues</b>	<b>5</b>
<b>4.Digitalisation des points homologues</b>	<b>5</b>
<b>5.Traitement des valeurs manquantes</b>	<b>6</b>
<b>6.La comparaison des crânes par superposition Procrustes</b>	<b>6</b>
<b>7. L'Analyse en composante principale</b>	<b>7</b>
<b>8. L'Analyse discriminante</b>	<b>7</b>
<b>III.Résultats</b>	<b>8</b>
<b>1.Estimation de l'erreur lors de la production de données</b>	<b>8</b>
<b>2.Facteurs influençant la taille de crâne chez les individus</b>	<b>8</b>
<b>3.Représentation des résidus Procrustes à l'aide de l'ACP pour la vue ventrale du crâne</b>	<b>9</b>
<b>4. L'Analyse discriminante</b>	<b>11</b>
<b>2.Test avec individus supplémentaires</b>	<b>13</b>
<b>V.Discussion</b>	<b>14</b>
<b>VI.Conclusion</b>	<b>15</b>
<b>VII.Bibliographie</b>	<b>15</b>
<b>VII. Annexes</b>	<b>17</b>



# I. Introduction

Les Rongeurs des sous-genres *Gerbillus* et *Dipodillus* Desmarest, 1804, sont adaptés aux milieux arides et semi-arides. Ils ont une large distribution qui s'étend du nord et de l'ouest de l'Afrique au nord-ouest de l'Inde et forment une part importante de la biodiversité dans et autour du désert du Sahara (Granjon & Denys, 2006). Les sous-genres *Gerbillus* et *Dipodillus* comprennent respectivement 38 et 13 espèces (Musser & Carleton, 2005) ce qui représente environ la moitié des espèces de la sous-famille des Gerbillinae. Les relations taxonomiques dans le genre *Gerbillus* font encore l'objet de révisions (Granjon & Montgelard, 2012) car certaines espèces ont une aire de distribution très peu étendue et les méthodes traditionnelles ne permettent pas toujours de différencier les espèces. Harrison & Bates en 1991 proposent ainsi de diviser le genre *Gerbillus* en deux sous-groupes sur des critères morphologiques; le sous-genre *Gerbillus* à soles plantaires velues habitant dans les déserts, et le sous-genre *Hendecapleura* à soles plantaires nues dans les steppes et les milieux rocailloux. La nature du sol, la coloration du substrat et l'humidité influent sur la coloration du pelage, au nord dans les milieux cultivés ou rocailloux, les espèces ont un pelage plus foncé que dans les milieux sableux arides. De récentes études moléculaires (Ndiaye *et al.*, 2011) suggèrent qu'il devrait bien y avoir 3 sous-genres (figure 1); *Dipodillus*, *Hendecapleura* et *Gerbillus* dans le genre *Gerbillus* et que le sous-genre *Hendecapleura* a divergé plus tôt que les deux autres sous-genres *Dipodillus* et *Gerbillus* (Abiadh *et al.*, 2010).



**Figure 1** : Phylogénie révisée du genre *Gerbillus* résumée des travaux de Ndiaye *et al.* (2016), obtenue à l'aide de séquences mitochondriale (cytochrome b) et nucléaire (interphotoreceptor retinoid-binding protein)

Les zones de montagne (Atlas) sont des barrières biogéographiques expliquant l'isolement des populations. Dans le sous-genre *Gerbillus*, les deux espèces *G. hoogstraali* et *G. occiduus* sont considérées comme endémiques du Maroc (Musser & Carleton, 2005). La distribution de *G. occiduus* va du sud de l'Anti-Atlas à l'ouest du Sahara (Aulagnier & Thévenot, 1986) alors que *G. hoogstraali* et le clade phylogénétique *Gerbillus* sp1 sont présentes dans les habitats sableux de la basse vallée du Souss (Zyadi, 1988). Les deux espèces *G. gerbillus* et *G. tarabuli* sont assez communes au Nord de



l'Afrique avec une extension de l'aire de répartition de *G. tarabuli* vers le sud probablement liée à la désertification (Granjon *et al.*, 1992).

Différents auteurs ont émis des hypothèses pour expliquer l'émergence des espèces endémiques en relation avec les variations du niveau moyen des mers durant le Pléistocène et le rôle du Haut Atlas et de l'Anti-Atlas en tant que barrières entre les espèces. Ainsi, la différenciation des espèces du genre *Gerbillus* à soles plantaires velues le long des côtes atlantiques d'Afrique du Nord-Ouest est expliquée par Ndiaye *et al.* (2011). Durant le Pléistocène, caractérisé par des variations climatiques marquées (Demenocal, 2004), les espèces se seraient différenciées lors des périodes interglaciaires quand les zones favorables étaient rares. Et pendant les périodes glaciaires, les espèces se seraient dispersées vers le nord avec une augmentation de l'aire de répartition (corridors côtiers) permise grâce à un niveau marin plus bas et un climat plus sec. L'augmentation du niveau marin suivante aurait piégé les gerbilles, au nord du Haut Atlas pour *G. hesperinus*, au sud pour *G. occiduus*, et entre le Haut Atlas et l'Anti Atlas pour *G. hoogstraali* et *Gerbillus sp1*.

Pour distinguer les espèces du genre *Gerbillus*, très ressemblantes morphologiquement, les caryotypes sont utilisés. Différents éléments peuvent varier, parmi lesquels ; le nombre de chromosome ( $2n$ ) (de 34 à 74), le nombre fondamental d'autosomes (NFa) (de 52 à 142) et la morphologie des chromosomes sexuels (Granjon & Dobigny, 2003). Parmi les espèces étudiées différents caryotypes sont déterminés; *G. gerbillus*  $2n=42$  (femelles) ou 43 (mâles), *G. tarabuli*  $2n=40$ , *Gerbillus hoogstraali*  $2n=72$ , *Gerbillus occiduus*  $2n=40$  et *Gerbillus sp1* (son caryotype n'est pas déterminé dans l'étude de Ndiaye *et al.*, 2011). Le clade moléculaire *Gerbillus sp1*, qui possède une répartition géographique au contact de l'aire de distribution de *G. hoogstraali* (Musser & Carleton 2005), ne se différencie pas de celle-ci du point de vue morphologique. Leur squelette est également similaire, ce qui pourrait s'expliquer par une adaptation commune aux mêmes conditions environnementales et climatiques de la vallée du Souss (Ndiaye *et al.*, 2011).

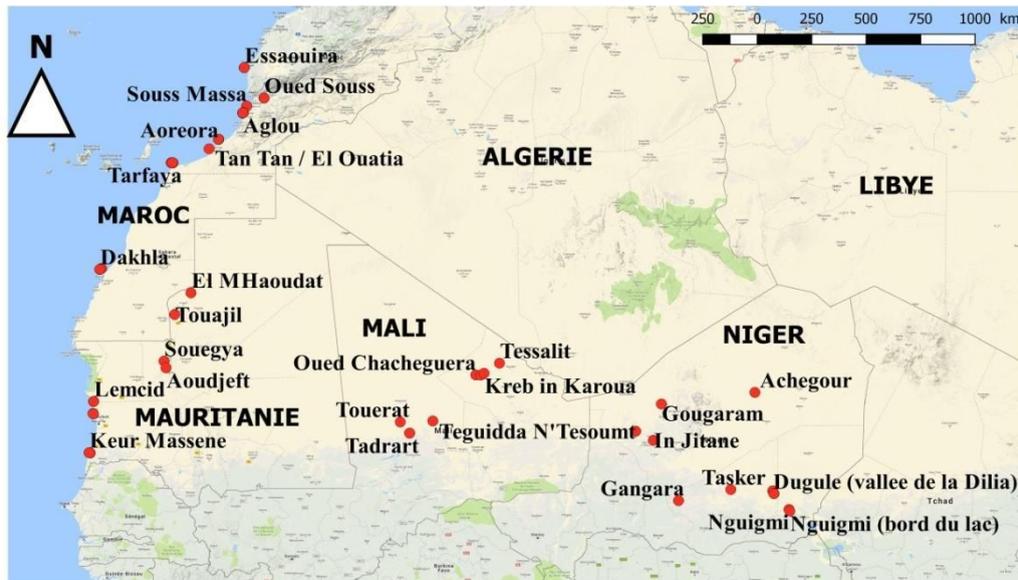
Cette étude a pour objectif de différencier les individus de cinq espèces, déterminés grâce à leur morphologie (Granjon & Denys, 2006) ainsi que par des analyses moléculaires (cytochrome b), appartenant au genre *Gerbillus* : *G. gerbillus*, *G. hoogstraali*, *G. occiduus*, *G. tarabuli* et le mitotype *Gerbillus sp1*. Pour cela les crânes d'individus font l'objet d'analyses de géométrie morphométriques permettant leur assignation à des groupes de références définis sur des bases moléculaires.



## II. Matériel et Méthode

### 1. Sites d'études et espèces étudiées

Les localités échantillonnées se trouvent au Maghreb et au Sahel et plus précisément au Maroc, au Mali, en Mauritanie et au Niger. Pour chaque espèce, l'échantillonnage couvre le maximum de localités disponibles ce qui permet de maximiser la variance morphologique (figure 2).



**Figure 2** : Localités d'origine des spécimens du sous-genre *Gerbillus* étudiés par morphométrie géométrique au Maroc, en Mauritanie, au Mali et au Niger.

Espèce/sexe	<i>Gerbillus gerbillus</i>	<i>Gerbillus hoogstraali</i>	<i>Gerbillus occiduus</i>	<i>Gerbillus sp1</i>	<i>Gerbillus tarabuli</i>	espèce non identifiée
Sexe inconnu	2	0	0	0	1	1
Femelles	19	6	14	7	14	1
Mâles	15	3	13	4	11	2
Total	36	9	27	11	26	4

**Tableau 1** : Répartition des individus de gerbilles du sous-genre *Gerbillus* échantillonnés selon leur espèce et leur sexe.

Au total, ce sont 109 individus qui ont été échantillonnés; 46 mâles, 60 femelles et 3 individus dont le sexe est inconnu (tableau 1). La répartition selon les espèces est la suivante; *Gerbillus gerbillus* (36),



*Gerbillus hoogstraali* (9), *Gerbillus occiduus* (27), *Gerbillus tarabuli* (26) et le mitotype *Gerbillus* sp1(11) qui correspond à une espèce non décrite taxonomiquement. De plus, 4 individus non identifiés ont été considérés comme des individus supplémentaires dans les analyses et des probabilités d'assignation à chacune des espèces existantes ont été calculées. Les crânes des individus sont conservés au Centre de Biologie pour la Gestion des Populations à Montpellier.

## 2.Préparation des objets biologiques

Après les phases de dissection, de cuisson, et de nettoyage, les crânes sont photographiés avec un appareil fixé à une distance focale de 45 mm, qui correspond environ à la vision humaine afin d'éviter toute déformation de l'objet. Deux sources lumineuses sont placées de chaque côté de l'objet photographié afin de garantir un meilleur contraste et ainsi éviter les ombres portées. Les pièces ostéologiques sont placés sur un fond rouge, pour un meilleur contraste et donc une meilleure délimitation des contours du crâne. Ce fond rouge est constitué par un lit de sable horizontal qui permet un positionnement du plan principal parallèlement à celui de la lentille lors de la prise de vue. Un papier millimétré est placé dans le champ de la prise de vue afin d'enregistrer les informations de taille.

## 3.Traitement des prises de vues

Les prises de vues sont retravaillées à l'aide du logiciel libre ImageMagick<sup>®</sup>. Les images sont positionnées dans le même sens, leur luminosité est augmentée, les bords réduits et elles sont transformées en image négative afin de mieux voir les sutures osseuses (Annexe 1). Les images ont été renommées automatiquement avec des utilitaires libres libdmtx qui permettent de créer des datamatrix correspondant aux numéros de l'individu et de la prise de vue. Ces mêmes utilitaires permettent ensuite de lire les datamatrix sur les photographies et d'en extraire les informations encodées.

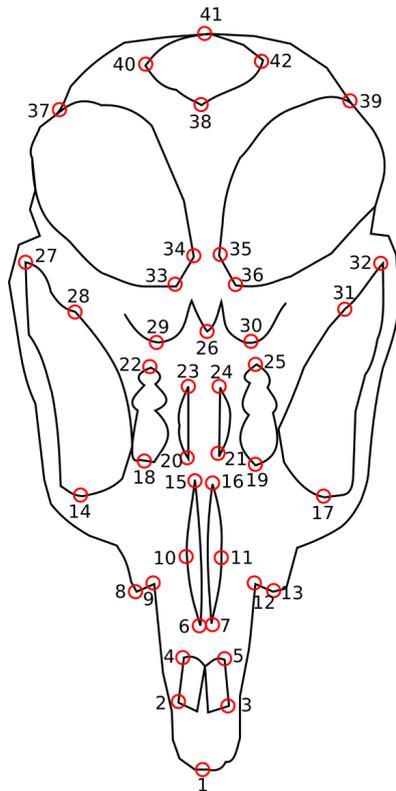
Afin d'estimer l'erreur de mesure intra-opérateur, chaque crâne a été photographié et digitalisé deux fois en séparant aléatoirement dans le temps ces deux répliqués.

## 4.Digitalisation des points homologues

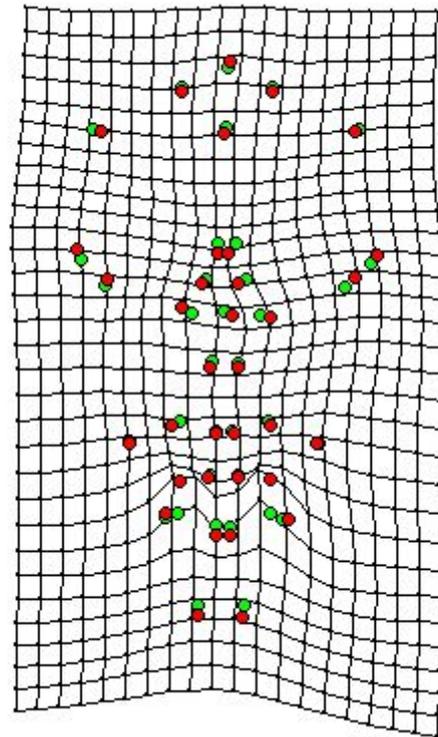
Les points homologues (i.e. ils peuvent être considérés comme des points "identiques" pour chaque spécimen de l'étude) sont choisis et disposés à des endroits répliquables entre individus différents pour résumer au mieux l'information morphologique pour la suite des analyses. Ils ont été choisis de façon à recouvrir un ensemble de mesures utilisées dans des études pour différencier les espèces de *Gerbillus* du Nord de l'Afrique (Abiadh et al., 2010), et ont été complétés par des points portés sur des sutures osseuses (Annexe 2).

Le logiciel TPSdig2 a été utilisé pour digitaliser les points homologues sur les prises de vue mélangées aléatoirement. Le tirage au sort des images permet de ne pas digitaliser à la suite les deux prises de vues d'un même individu et de rendre ainsi les événements de digitalisation indépendants. Ce logiciel crée un fichier comprenant des lignes distinctes pour : le nombre de points homologues, les coordonnées x et y de chaque point, un identifiant unique et le nom de la prise de vue. Les configurations des points homologues portées par les objets biologiques en vue ventrale sont présentés sur la figure 3, ils sont au nombre de 42, dont 19 sont symétriques deux à deux par rapport à l'axe de symétrie du crâne. Deux points supplémentaires (43 et 44) positionnés à un intervalle de 1 cm sur le papier millimétré de la photographie servent à indiquer l'échelle.





**Figure 3** : Configuration des points homologues étudiés sur la face ventrale des crânes de *Gerbillus*.



**Figure 4** : Représentation d'une grille de déformation de Arcy Thompson avec en vert la configuration moyenne servant de référence à la configuration cible en rouge qui comporte des points manquants à estimer.

## 5. Traitement des valeurs manquantes

Certaines structures des crânes ont été cassées lors de leur préparation ou de leur manipulation en collection. L'absence de ces structures ne permet pas de placer les points homologues correspondants qui ont été marqués comme "missing landmarks" lors de la digitalisation. Les coordonnées manquantes de ces points ont été remplacées par l'appellation "NA" dans le fichier TPS. Il y a ensuite eu un traitement différent de ces points manquants selon la nature des individus. Ceux qui appartenaient à des espèces connues ont été triés en fonction de celle-ci. Une forme moyenne a été calculée pour chaque espèce et a servi de référence afin d'estimer les coordonnées du(des) point(s) manquant(s) à l'aide de grilles de déformation de Arcy Thompson (figure 4).

Les taxons auxquels appartiennent les 4 individus supplémentaires (unknown) étant inconnus, une autre stratégie a été employée. Les points manquant ont été estimés par projection du point homologue symétrique par rapport à l'axe de symétrie du crâne ([life.bio.sunysb.edu/morph/morphmet/OSymm.R](http://life.bio.sunysb.edu/morph/morphmet/OSymm.R)).

## 6. La comparaison des crânes par superposition Procrustes

La taille et la conformation sont les deux variables qui définissent la forme d'un objet ou la morphologie d'un être vivant. C'est une allométrie lorsque la conformation se modifie avec la taille et



une isométrie lorsque ce n'est pas le cas. La morphométrie géométrique est une technique de morphométrie qui permet de rendre compte de la conformation d'un objet indépendamment de sa taille. La méthode utilisée dans ce travail est celle de la superposition Procrustes (Annexe 3) qui permet de comparer deux objets biologiques (par exemple deux crânes d'individus d'espèces différentes) qui diffèrent par leur position, leur orientation et leur taille. Pour cela le centre de gravité de la figure géométrique délimitée par des points homologues, est calculé (annexe 1). Ce point, le centroïde, permet de superposer les deux formes en faisant une translation. Ensuite, une mise à l'échelle va servir à transformer toutes les configurations de points de sorte qu'elles aient la même taille en calculant une taille centroïde (racine carrée de la somme des carrés des distances entre chaque point et le centre de gravité). En suivant, une rotation superpose les pré-conformations obtenues sur le consensus, (moyenne arithmétique des coordonnées de chaque point pour l'ensemble du jeu de données) qui devient la référence, par un ajustement au moindre carré (somme minimale des carrés de toutes les distances entre les points homologues de chaque conformation). Les individus sont comparés après la superposition Procrustes à l'aide d'analyses statistiques réalisées sur la projection des résidus Procrustes dans l'espace Euclidien.

## 7. L'Analyse en composante principale

L'Analyse en Composante Principale permet la représentation des résidus procrustes dans l'espace des conformations et des formes. En effet, la méthodologie utilisée lors de la projection des résidus Procrustes dans l'espace Euclidien place le consensus à l'origine des composantes principales. Chaque point de l'espace, défini par les plans de l'ACP, représente : un écart à la conformation du consensus si la taille est exclue de l'analyse, ou un écart à la forme du consensus si cette variable est prise en compte dans l'ACP.

## 8. L'Analyse discriminante

Le mitotype des animaux est un bon indicateur de l'appartenance à une espèce biologique (Hebert & Gregory, 2005). De ce fait, l'appartenance à des mitotypes distincts est corrélée avec des variations de forme du crâne. L'analyse linéaire discriminante permet, à partir de la connaissance a priori de l'appartenance des individus à des groupes, de calculer des fonctions discriminantes permettant de minimiser la variance intra-groupe et de maximiser la variance inter-groupe. La robustesse des fonctions discriminantes est testée à l'aide d'un rééchantillonnage des individus dans les groupes par Jackknife en excluant aléatoirement un individu du calcul des fonctions discriminantes et en calculant la probabilité de l'assigner à un des groupes. Chez les rongeurs il a été montré que l'analyse discriminante réalisée à partir des variables de forme (i.e. en tenant compte de la taille centroïde) est plus performante que lorsque les variables de conformation sont utilisées seules (Claude, 2013). Dans la suite de ce travail, la taille centroïde sera donc considérée avec les variables de conformation. De plus, il est possible d'augmenter le pouvoir discriminant en sélectionnant la configuration des points homologues et le nombre de composantes principales considérées dans l'ACP qui apportent le meilleur pouvoir discriminant. Dans ce travail, chaque configuration de points homologues a été simplifiée en enlevant tour à tour un point homologue (et son symétrique quand celui-ci existe). Pour chacune des configurations obtenues des analyses discriminantes ont été réalisées en faisant varier le nombre de composantes principales considérées (i.e. le nombre de variables). La configuration et le nombre de variables considérées offrant le meilleur pouvoir discriminant et l'erreur de mesure minimale ont été conservés.



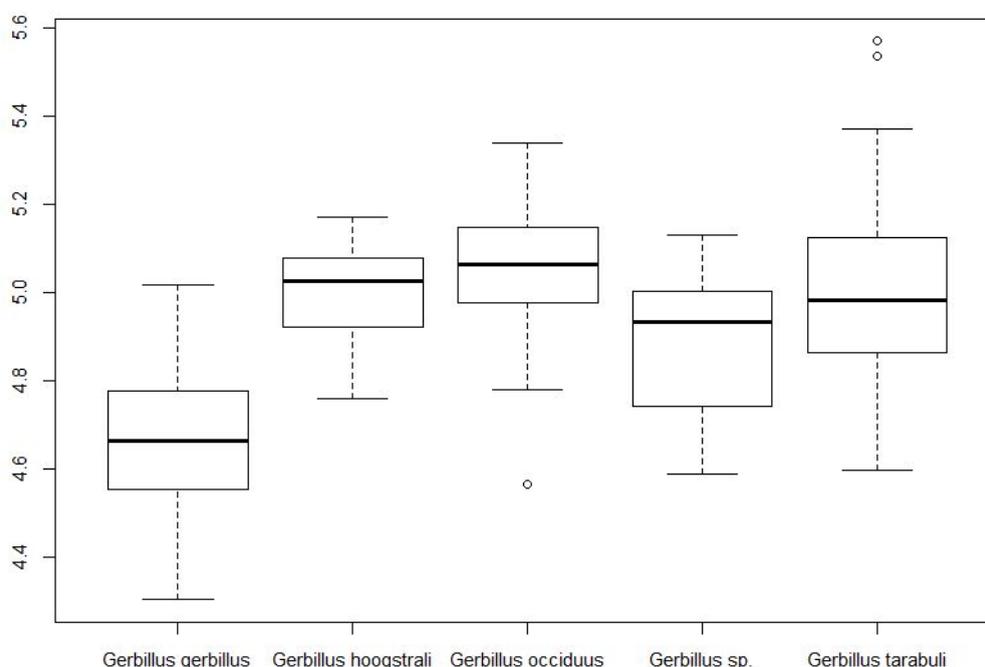
### III. Résultats

#### 1. Estimation de l'erreur lors de la production de données

Les deux points supplémentaires 43 et 44 servant à indiquer l'échelle ont une distance médiane de 272 et les valeurs varient de 269 à 275 soit une erreur intra opérateur de 6 pixels. L'erreur de mesure sur les données de morphométrie géométrique est évaluée pour la taille et la conformation, selon le protocole de Yezerinac (1992). Pour la vue ventrale du crâne, l'erreur de mesure sur la taille représente 2,84 % de la variance totale. L'erreur de mesure sur l'estimation de la conformation est plus importante puisqu'elle représente 32,6% de la variance totale. Elle reste cependant très inférieure à la variance inter individuelle.

#### 2. Facteurs influençant la taille de crâne chez les individus

Afin de déterminer si le sexe des individus joue un rôle sur la taille de leur crâne en vue ventrale, une analyse de variance (anova) est réalisée sur un échantillon de 106 individus qui exclut les individus dont le sexe n'a pas été déterminé. Avec une p-value seuil à 5%, les résultats montrent que le sexe des animaux n'explique pas la variation des tailles (Pillai(1,96)= 0.8777. P=0.2192) et il n'y a pas d'interaction significative entre le sexe et le mitotype (Pillai(4,96)=3.2439. P=0.5007). On réalise un test d'anova (hypothèse nulle H0 : les moyennes des tailles centroïdes des crânes en fonction des espèces sont égales), le résultat (F(4,209)=48.361. P<2,2e-16) permet de rejeter cette hypothèse, l'appartenance à une espèce explique une part significative de la variabilité de la taille centroïde des crânes en vue palatine. Les conditions d'application sont vérifiées, les résidus du modèle sont distribués normalement (shapiro test ; P=0.2825), la variance est constante (bp test , P= 0.07527) et il n'y a pas d'autocorrélation (dw test, P=0.1954). Cette dispersion des mesures de morphométrie est représentée sous la forme de boîte à moustaches (figure 5).



**Figure 5** : Représentation graphique de la distribution des tailles centroïdes des crânes en vue palatine des individus adultes par mitotype.



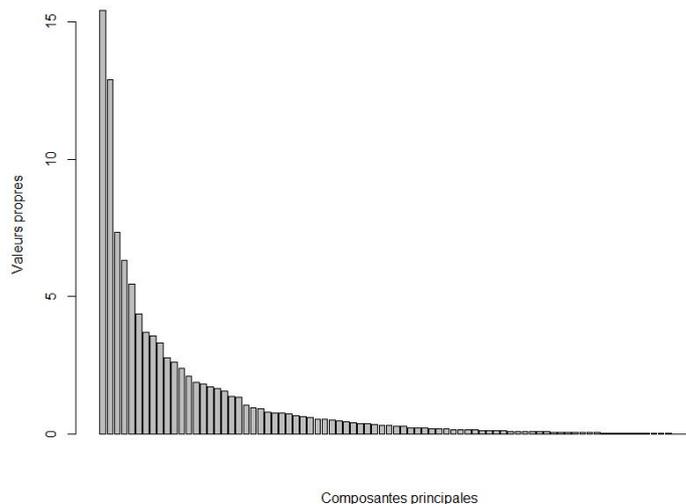
Avec une p-value seuil égale à 5%, on n'observe pas de différence significative entre les moyennes des tailles de *G. hoogstraali* et les trois autres espèces que sont *G. occiduus* (P= 1), *Gerbillus sp1* (P=0.497) et *G. tarabuli* (P=1). Entre *G. tarabuli* et deux autres espèces; *G. hoogstraali* (P=1) et *G. occiduus* (P=1) , il n'y a pas non plus de différences significatives. *G. gerbillus* est quand à elle significativement différente des quatre autres espèces (P<0.001) et *G. occiduus* avec *Gerbillus sp1* (P=0.005) et *G. tarabuli* avec *Gerbillus sp1* (P=0.042) sont aussi significativement différentes entre elles.

Espèce	<i>Gerbillus gerbillus</i>	<i>Gerbillus hoogstraali</i>	<i>Gerbillus occiduus</i>	<i>Gerbillus sp1</i>	<i>Gerbillus tarabuli</i>
<i>Gerbillus hoogstraali</i>	<0.001	-	-	-	-
<i>Gerbillus occiduus</i>	<0.001	1	-	-	-
<i>Gerbillus sp1</i>	<0.001	0.497	0.005	-	-
<i>Gerbillus tarabuli</i>	<0.001	1	1	0.042	-

**Tableau 2** : Valeurs des p-value des pairwise t test permettant de comparer deux à deux les moyennes des tailles centroïdes des crânes en vue palatine des cinq espèces de gerbilles.

### 3.Représentation des résidus Procrustes à l'aide de l'ACP pour la vue ventrale du crâne

Des analyses en composantes principales ont été réalisées sur les résidus Procrustes afin de représenter les 109 individus dans l'espace des formes pour caractériser les différences entre les données de morphométrie géométrique.

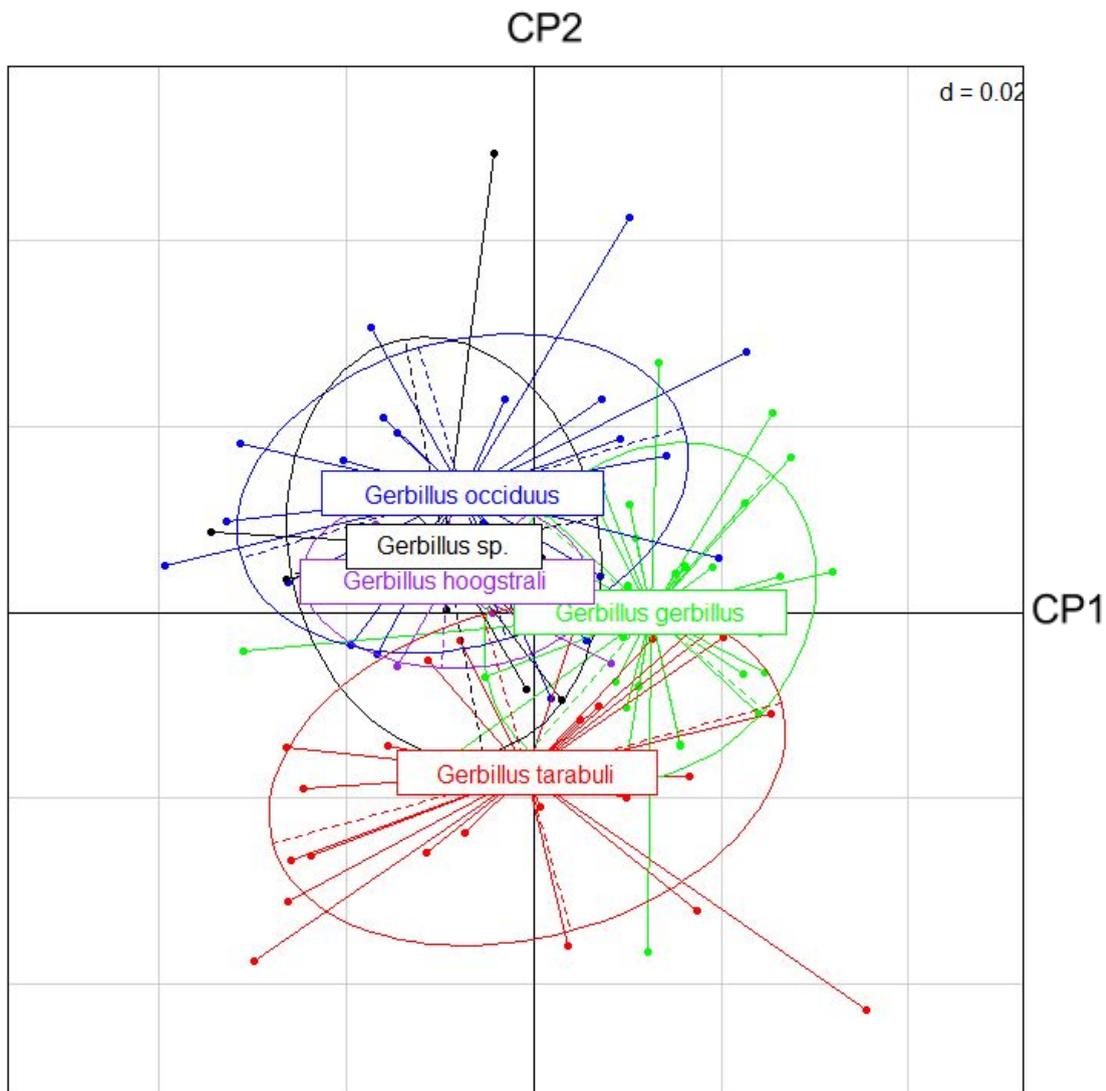


**Figure 6** : Valeurs propres représentées par les composantes principales



L'axe 1 représente 15,4% de l'information initiale, l'axe 2 12,9%, l'axe 3 7,3% et l'axe 4 6,3%. A eux quatre, ils ne représentent que 41,9% de l'information initiale, ce qui signifie que plus de la moitié des informations initiales n'est pas prise en compte si l'on prend en compte les quatre axes principaux (figure 6).

La forme du crâne de chaque individu est représenté par un point dans le plan principal de l'ACP (figure 7). On remarque qu'il y a un regroupement en fonction des espèces. La variation de conformation sur les axes est représentée avec la conformation minimale moyenne des individus en bleu et la conformation maximale en rouge (figure 8).



**Figure 7** : Représentation de l'analyse en composantes principales sur les données de morphométrie géométrique du crâne en vue ventrale



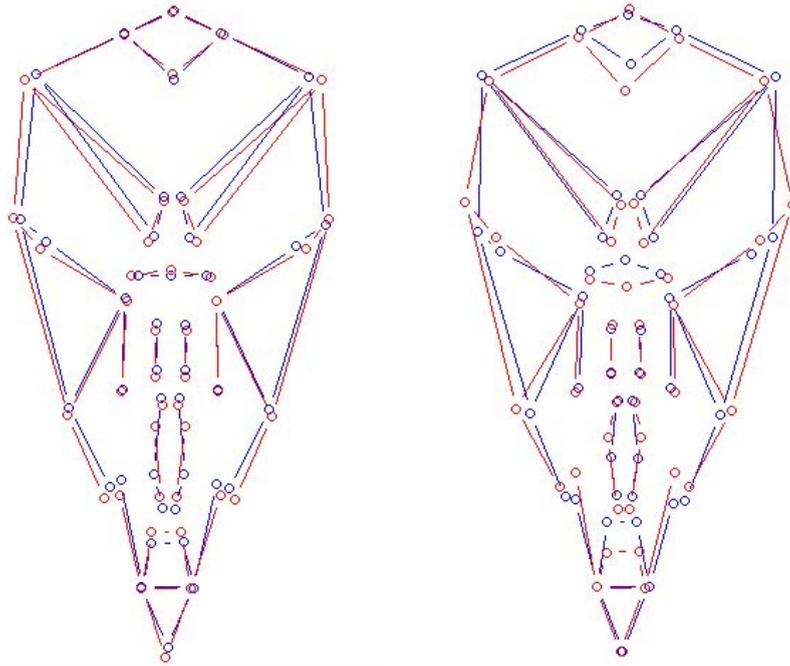


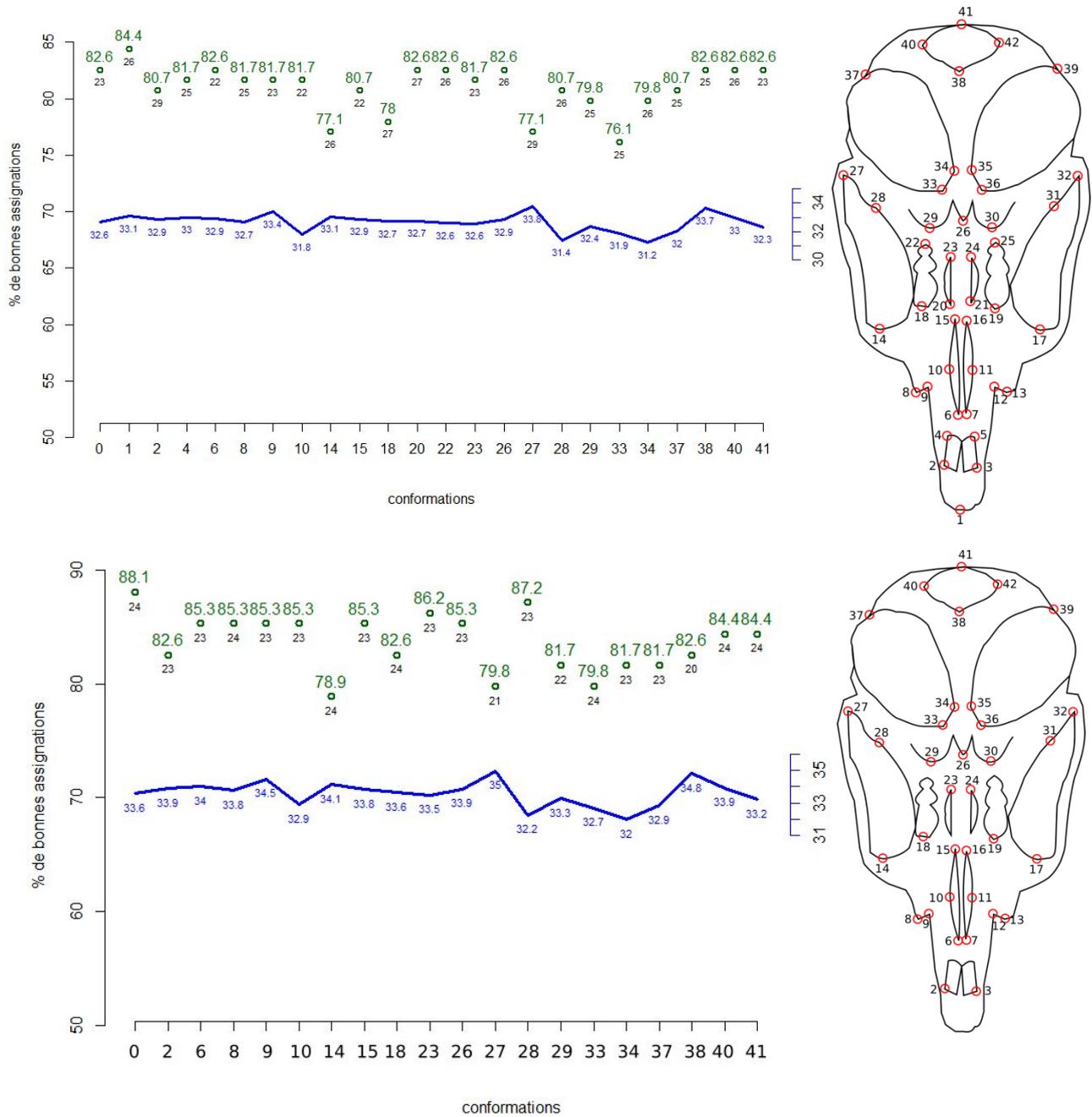
Figure 8 : Variation des conformations moyennes de la première composante principale (à droite) et de la deuxième composante principale (à gauche) avec une conformation minimale en bleue et une conformation maximale en rouge.

L'étude des conformations moyennes sur la première composante principale fait apparaître que les individus ayant des ordinations négatives ont des crânes moins larges, des bulles tympaniques plus décalées vers le foramen magnum, des incisives plus courtes et un rostre moins long que ceux possédant des ordinations positives comme *G. gerbillus*. Lorsque la variation est visualisée sur la seconde composante principal, les individus ayant des ordinations négatives, par exemple ceux appartenant à l'espèce *G. tarabuli* (figure 6) ont un crâne moins large, une limite interne du renflement maxillaire plus basse, des incisives plus longues et un plus petit foramen magnum que ceux possédant des ordination positives. Cependant, la variance portée par ces deux composantes est faible et ne représente qu'une petite partie de la variation totale de la morphologie du crâne.

#### 4. L'Analyse discriminante

Lorsque l'on réalise l'analyse linéaire discriminante (ALD) sur les composantes principales de l'ACP réalisée sur les variables de conformation et taille, le pouvoir discriminant entre mitotypes est de 82,6% (l'erreur de mesure représente 32,6% de la variance totale) pour 42 points homologues et 23 composantes de conformation (figure 8). Comme il reste des erreurs d'assignation, on optimise la configuration des points homologues sélectionnés pour représenter la conformation du crâne. En enlevant le point 1 à l'extrémité du rostre, le pouvoir discriminant maximum est amélioré de 1,8% pour arriver à 84,4%. Le pouvoir discriminant s'améliore jusqu'à atteindre 88,1% en conservant 24 composantes de forme et en enlevant tour à tour 7 points homologues (1, 4-5, 20-21 et 22-25). La configuration de points qui conduit à la meilleure discrimination du jeu de données est atteinte (figure 9) avec 24 composantes de conformation comme variables à expliquer dans l'analyse discriminante avec une erreur de mesure associée de 33,6% de la variance totale. Une fois tous ces points ôtés, aucune configuration n'améliore le pouvoir discriminant.





**Figure 9 :** Graphique associant le pouvoir discriminant moyen maximum (point vert) d'une conformation en fonction du nombre de composantes de forme associées (en noir sous le point vert). La courbe bleue correspond à l'évolution de l'erreur de mesure associée en pourcentage de la variance totale (Chaval, 2014). Le dessin à droite correspond à la conformation initiale positionnée au 0 de l'axe des abscisses. Les autres abscisses correspondent à cette conformation à laquelle on a enlevé le point homologue correspondant au chiffre porté sous l'axe et son symétrique.

En haut : Comparaison du pouvoir discriminant de la conformation initiale de 42 points homologues (dessin des points homologues correspondants à droite) avec le pouvoir discriminant de cette configuration à laquelle a été enlevé un point homologue et son symétrique quand celui-ci est présent. On constate que le retrait du point 1 à l'apex du rostre nasal augmente le pouvoir discriminant.



En bas : graphique correspondant à la dernière tentative de simplification de la configuration. La configuration de départ (abscisse 0) est la configuration d'origine à laquelle on a retiré 7 points afin d'optimiser son pouvoir discriminant. Elle est représentée sur le dessin de droite. Cette conformation offre le meilleur résultat d'assignation des individus aux groupes pré-définis moléculairement (88,1%) Tout retrait d'un nouveau point dégrade le pouvoir discriminant de l'analyse

Les tests d'assignations sont présentés dans le tableau 3. *Gerbillus gerbillus*, *Gerbillus occiduus* et *Gerbillus tarabuli* sont relativement bien attribués avec des pourcentages de bonnes assignations supérieurs à 84,6% pour *Gerbillus occiduus*, le meilleur résultat étant pour *Gerbillus tarabuli* avec 96,1%. Par contre, *Gerbillus sp1* est celle qui a le plus bas pourcentage de bonnes assignations avec 70%, suivie par *Gerbillus hoogstraali* avec 72,7%.

predicted	<i>Gerbillus gerbillus</i>	<i>Gerbillus hoogstraali</i>	<i>Gerbillus occiduus</i>	<i>Gerbillus sp1</i>	<i>Gerbillus tarabuli</i>	% de bonnes assignations
<i>Gerbillus gerbillus</i>	<b>34</b>	0	1	0	1	94.4
<i>Gerbillus hoogstraali</i>	0	<b>8</b>	1	2	0	72.7
<i>Gerbillus occiduus</i>	1	1	<b>22</b>	2	0	84.6
<i>Gerbillus sp1</i>	1	0	2	<b>7</b>	0	70.0
<i>Gerbillus tarabuli</i>	0	0	1	0	<b>25</b>	96.1

**Tableau 3** : Résultats de Jackknife présentant en colonne le classement des individus identifiés moléculairement à des groupes morphométriques en ligne.

## 2. Test avec individus supplémentaires

Des probabilités d'assignation à chacune des espèces existantes ont été calculées pour les 4 individus non identifiés (unknown) considérés comme des individus supplémentaires dans les analyses (tableau 4). MAR08-LG137 ne correspond à aucun des mitotypes avec une probabilité de 100%, MAR08-LG029, MAR08-LG033 et S8422 ont tous les trois de grandes chances d'appartenir à l'espèce *Gerbillus occiduus*, même si MAR08-LG029 a 32% de chance d'appartenir à l'espèce *Gerbillus hoogstraali*.

predicted	<i>Gerbillus gerbillus</i>	<i>Gerbillus hoogstraali</i>	<i>Gerbillus occiduus</i>	<i>Gerbillus sp1</i>	<i>Gerbillus tarabuli</i>	Aucun
<b>MAR08-LG137</b>	0	0	0	0	0	<b>100</b>
<b>MAR08-LG029</b>	0	<b>32</b>	<b>67</b>	<b>1</b>	0	0
<b>MAR08-LG033</b>	0	<b>3</b>	<b>89</b>	<b>8</b>	0	0
<b>S8422</b>	0	0	<b>100</b>	0	0	0



Tableau 4 : Résultats des pourcentages d'assignation à un mitotype de quatre individus dont le mitotype est inconnu

## V. Discussion

Lors de la production des données, des erreurs de mesure sont introduites à différents niveaux. La première source d'erreur provient de la façon dont le crâne est placé lors de la prise de vue. Si chaque crâne n'est pas parfaitement perpendiculaire à l'axe focal, une variance artificielle entre les individus est ajoutée. Une deuxième source d'erreur provient de la capacité de l'opérateur à placer les points homologues toujours de la même façon quelle que soit la prise de vue. Ces sources d'erreurs ont été limitées dans ce travail. En effet le travail de prise de vue ainsi que le travail de digitalisation ont été réalisés respectivement par un seul opérateur. Cependant le placement des points homologues a sans doute été influencé par le mauvais état de certains crânes à qui il manquait certaines structures ou qui étaient mal nettoyés. A l'issue de la détermination de la configuration ayant le meilleur pouvoir discriminant, l'erreur de mesure intra-opérateur de 33,6%, ce qui est assez élevé notamment si on le compare à d'autres résultats ( Claude, 2013, Chaval, 2014) ou pour la vue ventrale, l'erreur de mesure associée à cette conformation ne représente que 11,6% de la variance totale. La variance induite par ces erreurs peut masquer la variance liée au trait que l'on souhaite étudier ce qui rendrait l'analyse impossible. Cependant ici la variance inter individuelle que nous souhaitons mesurer reste supérieure à l'erreur de mesure.

Le pouvoir discriminant global est de 88,1 %. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux de Ndiaye *et al.* de 2011 qui soulignait la difficulté de différencier morphologiquement les trois espèces *G. hoogstraali*, *G. occiduus* et *Gerbillus sp1*. Il semble que cela soit une situation courante dans la sous famille des Gerbillinae avec de nombreuses espèces cryptiques dont le crâne est très similaire.

Ce résultat pourrait certainement être amélioré. En effet l'échantillon de référence que nous avons utilisé n'est pas idéal. Les individus ne sont pas idéalement répartis entre les espèces. Pour avoir un échantillon représentatif de la morphologie de l'espèce il faut un nombre minimum d'individus équilibrés en sexe et classes d'âge. Le dimorphisme sexuel des individus peuvent influencer la morphologie crânienne (Monteiro *et al.*, 2003) de la même façon que l'espèce. L'échantillon n'a pas une répartition idéale de ; un quart de femelles jeunes, un quart de femelles âgées, un quart de mâles jeunes et un quart de mâles âgés qui permettrait d'annuler cette influence sur la morphologie (figure 1). Même s'il a été montré qu'il n'y avait pas de dimorphisme sexuel pour la taille pour cette étude, le dimorphisme lié à l'âge n'a pas été testé car les données n'étaient pas disponibles. Les tailles moyennes qui ne sont pas significativement différentes entre *G. tarabuli* et *G. occiduus* ainsi qu'avec *Gerbillus sp1* peuvent s'expliquer par le fait que ces trois espèces se trouvent dans des zones de recouvrement phénotypiques et d'autres éléments du squelette seraient nécessaire à la bonne identification des individus, par exemple des mesures sur la face dorsale des crânes. Une hypothèse pour expliquer cette ressemblance est la phylogénie, ces espèces sont très proches(cf figure 1) alors que *G. gerbillus* est la plus éloignée ce qui pourrait être concordant avec le fait que cette espèce soit significativement différente des quatre autres.

De plus, toutes les espèces doivent comporter un nombre d'individus voisin. Sinon les espèces représentées par plus d'individus auront plus de poids dans le calcul des fonctions discriminantes et les espèces les moins représentées risquent d'être moins bien discriminées. Lorsque le nombre d'individus par espèce est différent, l'échantillonnage est dit balancé. L'analyse discriminante linéaire est connue pour être sensible à des différences dans la taille des groupes étudiés. L'espèce *Gerbillus gerbillus* rassemble plus de trente individus, *Gerbillus hoogstraali* n'en ayant que neuf en comparaison. Si de nouveaux échantillonnages sont réalisés, il serait intéressant d'inclure plus d'individus à l'étude, de même que d'autres espèces de gerbilles de la même aire biogéographique afin de pouvoir par exemple évaluer les évolutions de morphologie des crânes pour tout le genre.



Cependant, certaines espèces, ont une taille de population très restreinte, *Gerbillus hesperinus* pourtant très proche de *Gerbillus hoogstraali* (Ndiaye *et al.*, 2016) n'a pas été échantillonnée car celle-ci est classée dans la catégorie "en danger" sur la liste rouge de l'UICN. Sa population est limitée à seulement deux sites menacés par la construction de complexes touristiques, de nouvelles données sur l'espèce pourraient d'ailleurs permettre sa classification dans la catégorie "en danger critique d'extinction".

## VI. Conclusion

Cette étude a été réalisée afin de compléter l'identification moléculaire de cinq espèces du genre *Gerbillus* par des méthodes de géométrie morphométrique. Cela pourrait faciliter l'identification des espèces très ressemblantes sur le terrain sans avoir besoin de recourir précédemment à des analyses moléculaires. Pour cela, nous avons fait une étude de la variabilité des espèces à l'aide des techniques de morphométrie géométrique ainsi que l'étude de l'erreur de mesure. Cette étude a montré que chez les rongeurs étudiés, les tailles crâniennes des individus ne sont pas influencées par le sexe mais par l'espèce à laquelle ils appartiennent. L'analyse discriminante prédictive utilisant l'appartenance des individus comme à priori permet de discriminer les espèces avec une réussite de 88,1% mais le taux d'erreur de mesure associé est un facteur limitant dans la bonne assignation des individus à une espèce. Les tests d'assignation sont aussi différents selon les espèces, *Gerbillus gerbillus*, *Gerbillus occiduus* et *Gerbillus tarabuli* sont relativement bien attribués avec des pourcentages d'assignations supérieurs à 84,6% mais *Gerbillus sp1* qui est l'espèce à discriminer pour cette étude, est celle qui a le plus bas pourcentage d'assignation avec 70%, suivie par *Gerbillus hoogstraali* avec 72,7%. Pour conclure, nous montrons que l'utilisation de la géométrie morphométrique est utile pour la différenciation d'espèces très proches morphologiquement mais identifiées comme des espèces différentes par des méthodes moléculaires. Ces deux méthodes sont donc complémentaires et sont déjà utilisées pour caractériser de nouvelles espèces. La morphologie des crânes des espèces actuelles peut permettre de reconstruire les relations phylogénétiques entre espèces ainsi que la niche écologique des espèces (Wiens *et al.*, 2010). De nombreux pays, et pour cette étude, plus particulièrement le Maroc bénéficient de l'avancée de ces méthodes pour mieux connaître leur biodiversité. Cela pourrait servir à mieux caractériser les espèces endémiques pour favoriser leur conservation. Avec l'intensification de l'agriculture, le développement des industries et du tourisme, il est important de développer l'étude des espèces vivant dans ces environnements afin de mesurer leur pression anthropique sur la diversité des animaux.



## VII. Bibliographie

- Abiadh, A., Chetoui, M. B., Lamine-Cheniti, T., Capanna, E., & Colangelo, P. (2010). Molecular phylogenetics of the genus *Gerbillus* (Rodentia, Gerbillinae): Implications for systematics, taxonomy and chromosomal evolution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56(2), 513-518.
- Arbionnier, M. (2000). *Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest Trees, shrubs and lianas of West Africa dry zones, Mali, Ouagadougou: Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le développement/Muséum national d'histoire naturelle/Union mondiale pour la nature*. CIRAD/MNHN/UICN.
- Aulagnier, S., & Thevenot, M. (1986). *Catalogue des mammifères sauvages du Maroc*. Royaume du Maroc, Ministère de l'éducation nationale, Université Mohammed V, Institut scientifique.
- Aulagnier, S. & Granjon, L. 2008. *Gerbillus occiduus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T9138A12964306.
- Chaval, Y., (2014). Taxonomie intégrative de la tribu des Rattini (Rodentia, Muridae) en Asie du Sud-Est. Mémoire pour l'obtention du diplôme de l'École Pratique des Hautes Études : Sciences de la Vie et de la Terre, 290 p.
- Claude, J. (2013). Log-shape ratios, Procrustes superimposition, elliptic Fourier analysis: three worked examples in *R. Hystrix*, the Italian Journal of Mammalogy, 24(1), 94-102.
- Deménil, P. B. (2004). African climate change and faunal evolution during the Pliocene–Pleistocene. *Earth and Planetary Science Letters*, 220(1-2), 3-24.
- Granjon, L., Duplantier, J. M., Catalan, J., & Britton-Davidian, J. (1992). Karyotypic data on rodents from Senegal. *Israel Journal of Zoology*, 38(3-4), 263-276.
- Granjon, L., & Dobigny, G. (2003). The importance of cytotaxonomy in understanding the biogeography of African rodents: Lake Chad murids as an example. *Mammal Review*, 33(1), 77-91.
- Granjon, L., & Denys, C. (2006). Systématique et biogéographie des Gerbilles sahariennes du genre *Gerbillus* (Rongeurs, Muridés; Gerbillinés). *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle d'Afrique du Nord*, 73, 33-44.
- Granjon, L., & Montgelard, C. (2012). The input of DNA sequences to animal systematics: rodents as study cases. *DNA sequencing—methods and applications*, 539-551.
- Harrison, D. L., & Bates, P. J. J. (1991). *The mammals of Arabia* (Vol. 357). Sevenoaks: Harrison Zoological Museum.
- Hebert, P. D., & Gregory, T. R. (2005). The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic biology*, 54(5), 852-859.
- Jordan, R. G., Davis, B. L., & Baccar, H. (1974). Karyotypic and morphometric studies of Tunisian *Gerbillus*. *Mammalia*, 38(4), 667-680.
- Musser, G. G., & Carleton, Y. (2005). Superfamily Muroidea. Pp. 894-1531 in *Mammal species of the World, a taxonomic and geographic reference* (Wilson, DE, y DM Reeder, eds.).
- Ndiaye, A., Ba, K., Aniskin, V., Benazzou, T., Chevret, P., Konečný, A., ... & Granjon, L. (2012). Evolutionary systematics and biogeography of endemic gerbils (Rodentia, Muridae) from Morocco: an integrative approach. *Zoologica Scripta*, 41(1), 11-28.
- Nicolas, V., Ndiaye, A., Benazzou, T., Souttou, K., Delapre, A., & Denys, C. (2014). Phylogeography of the North African dipodil (Rodentia: Muridae) based on cytochrome-b sequences. *Journal of Mammalogy*, 95(2), 241-253.
- Ndiaye, A., Chevret, P., Dobigny, G., & Granjon, L. (2016). Evolutionary systematics and biogeography of the arid habitat-adapted rodent genus *Gerbillus* (Rodentia, Muridae): a mostly Plio-Pleistocene African history. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 54(4), 299-317.
- Wiens, J. J., Ackerly, D. D., Allen, A. P., Anacker, B. L., Buckley, L. B., Cornell, H. V., ... & Hawkins,



- B. A. (2010). Niche conservatism as an emerging principle in ecology and conservation biology. *Ecology letters*, 13(10), 1310-1324.
- Zyadi, F. (1988). Répartition de *Gerbillus hoogstraali* Lay, 1975 (Rongeurs, Gerbillidés) au sud du Maroc. *Mammalia*, 52(1), 132-133.



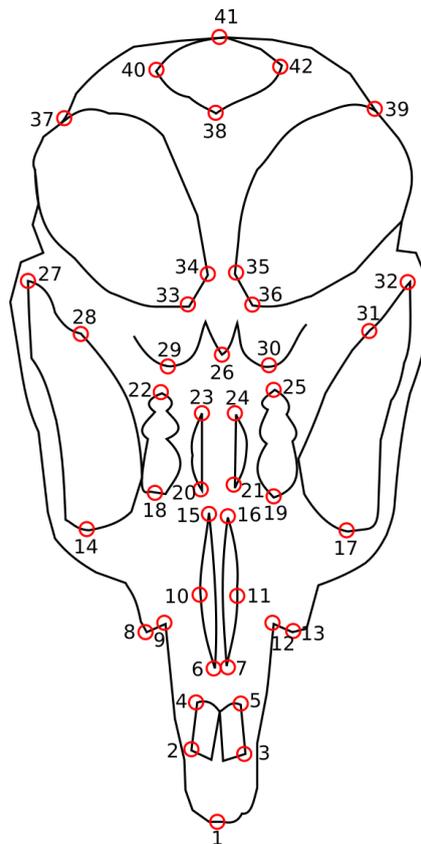
## VII. Annexes

Annexe 1 : Photographie d'un crâne en vue ventrale transformée en négatif afin de mieux faire ressortir les sutures osseuses.





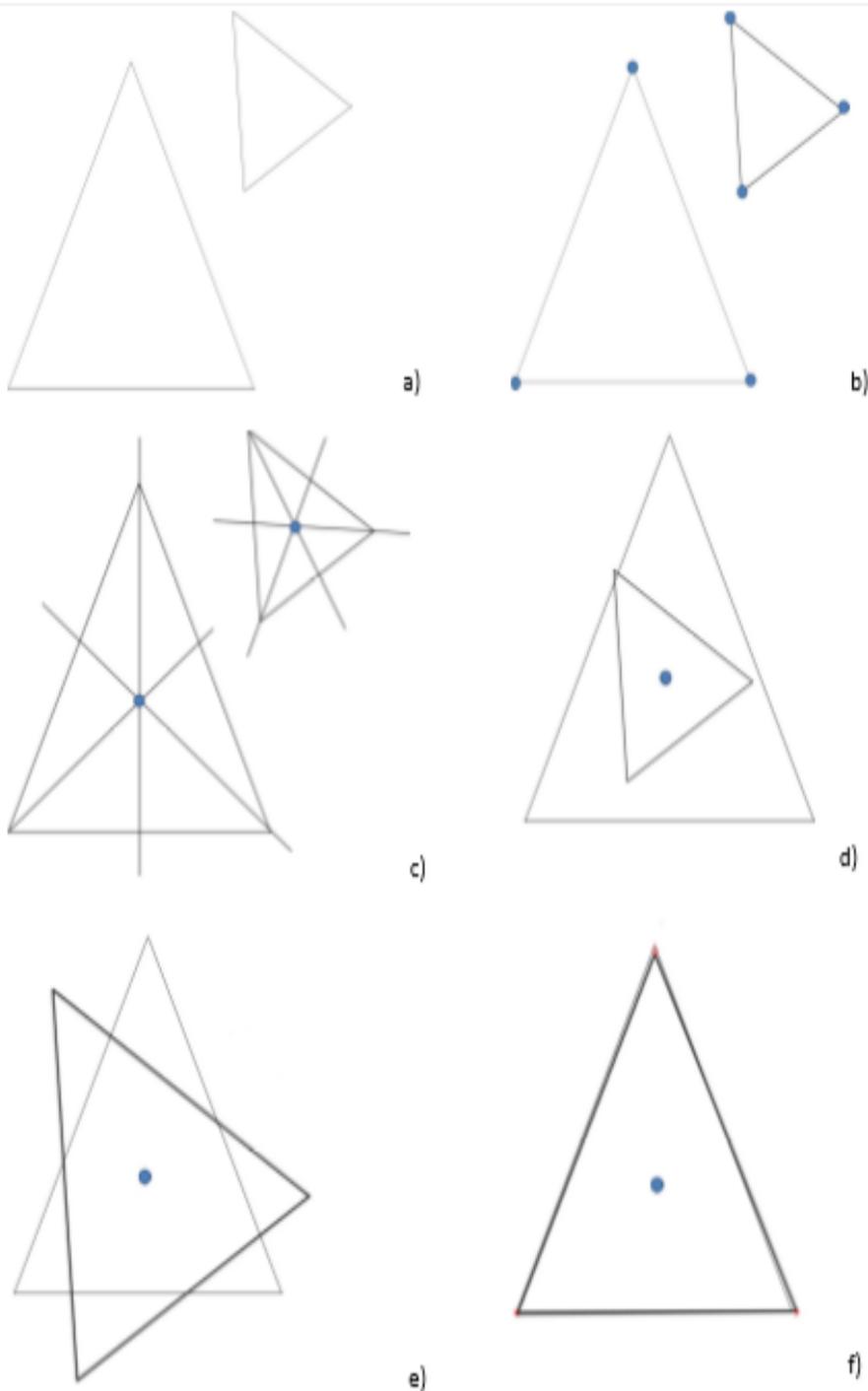
## Annexe 2 : Dénomination des points homologues



- 1-Point le plus antérieur du crâne
- 2,3- Sommet antérieur des incisives
- 4,5-Sommet postérieur des incisives
- 6,7-Point le plus antérieur des foramens incisifs
- 8,13-Point le plus antérieur de l'arche zygomatique
- 9,12-Limite la plus interne du renflement maxillaire
- 10,11-Plus grande largeur des foramens incisifs
- 14,17-Point le plus antérieur de l'orbite
- 15,16-Point le plus postérieur des foramens incisifs
- 18-19-Limite antérieure de la première molaire
- 20,21-Point le plus antérieur des foramens palatins
- 22,25-Limite postérieure de la troisième molaire
- 23,24-Point le plus postérieur des foramens palatins
- 26-Limite postérieure du palais
- 27,32-Point le plus postérieur de l'orbite
- 28,31-Jonction de l'os squamosal et sphénoïde
- 29,30-Maximum de courbure de la limite postérieure du palais
- 33,36-Plus grande longueur de la bulle tympanique avec les points 37,39
- 34,35-Jonction entre la bulle tympanique, l'os basisphénoïde et l'os basioccipital
- 37,39-Jonction de la bulle tympanique et de l'os basioccipital
- 38-Partie la plus antérieure du foramen magnum
- 40,42-Partie la plus latérale du foramen magnum
- 41-Partie la plus postérieure du foramen magnum



Annexe 3 (Chaval, 2014) : Les étapes de la superposition Procrustes



ANNEXE 3: Les étapes de la superposition Procrustes. (a) L'objectif est de comparer deux objets qui diffèrent par leur position, leur orientation et leur taille. (b) L'information est résumée par un ensemble de points homologues \*. (c) Le centre de gravité des figures est calculé (d) une **translation** permet de faire correspondre les centres de gravité des formes (e) une **mise à l'échelle** permet de séparer la variable de taille et celle de conformation (f) Enfin une **rotation** permet de faire correspondre les conformations par un ajustement au moindre carré. Les flèches rouges représentent les différences entre conformations aussi appelés les résidus Procrustes.

\* Ici trois points placés aux sommets résument l'ensemble de l'information de forme. Ici les triangles ont été conservés pour visualiser de façon plus parlante les étapes de la superposition mais en réalité l'analyse ne porte que sur les configurations de points homologues faisant abstraction de l'objet proprement dit.



Annexe 4 : Tableau de l'analyse de variance multivariée (Manova type II) réalisée sur les composantes principale de l'ACP pour les résidus Procrustes de la vue ventrale du crâne. L'effet du mitotype et du sexe sont testés.

	Df	Pillai	approx F	num Df	den Df	Pr (>F)
sex	1	0.8777	1.42	81	16	0.2192
sp	4	3.6465	2.42	324	76	5.057e-06 ***
sex:sp	4	3.2439	1.01	324	76	0.5007
Residuals	96					

