

Phylogenetic variability of the caramote prawn *Penaeus (Melicertus) kerathurus* in the Tunisian waters

Positionnement phylogenetique des crevettes royales *Penaeus (Melicertus) kerathurus* des eaux tunisiennes

S. MILI ^{1,2*}, R. ENNOURI ², N. BOURIGA ³, H. MISSAOUI ²

¹ Research Unit: Exploitation of the aquatic Environment. Higher Institute of Fisheries and Aquaculture, Bizerte. BP 15, 7080 Menzel Jemil, Tunisia.

² National Institute of Marine Science and Technology, 28, street 2 mars 1934 Salammbô, 2025, Tunisia.

³ Research Unit: Marine biology. Faculty of Sciences of Tunis, 2092 University campus, Tunis, Tunisia.

*Corresponding author: mili.sami.ispa@gmail.com

Abstract – The aim of this study is to characterize populations of Tunisian prawns *Melicertus (Penaeus) kerathurus* (Forskål, 1775) and to test the presence of geographical barriers between areas of distribution of this species. We studied the genetic variability of samples collected from 9 areas (Bizerta lagoon, Gulf of Tunis, Gulf of Hammamet, Sahel, Gulf of Gabes (coastal and offshore areas), Boughrara lagoon, Biban lagoon and Zarzis). Portions of cytochrome c oxidase I (COI) gene were used for the phylogenetic analyses of *Melicertus (Penaeus) kerathurus*. These prawns have an important morphological variability in the carapace pigmentation. The results of the molecular study, based on the PCR, showed that the Tunisian prawns belong to the species *Melicertus (Penaeus) kerathurus* (Forskål, 1775) with some genetic variability. These results were approved following the phylogenetic tree using the “Maximum Parsimony” method. Shrimp collected from Bizerta lagoon was separated from other populations; this observation eliminates the hypothesis of migration of this species through the channel of Bizerte. Sequences of individuals sampled from Tunisian bays (Tunis, Hammamet and Gabes) are grouped in a single clad. This result explains the similar color in the pigmentation of shrimp captured in these areas.

This molecular study indicates an absence of genetic barriers between the populations of Tunisian shrimp. Genetic and morphological variability in the pigmentation appears reflecting the heterogeneity of environmental factors in the areas of presence of this species.

Keywords: phylogenetic variability, caramote prawn, *Penaeus (Melicertus) kerathurus*, Tunisian waters.

Résumé - Afin de caractériser les populations de la crevette royale *Melicertus (Penaeus) kerathurus* (Forskål, 1775) des côtes tunisiennes et de tester la présence d'éventuelles barrières géographiques entre les zones de répartition de cette espèce, nous avons étudié la variabilité génétique d'échantillons collectés dans neuf sites (lagune de Bizerte, golfe de Tunis, golfe de Hammamet, région du Sahel, zone côtière et large du golfe de Gabès, lagune de Boughrara, lagune du Biban et la zone est de Zarzis). Des portions de gène cytochrome c oxidase I (COI) ont été utilisées pour positionner phylogénétiquement l'espèce *Melicertus (Penaeus) kerathurus* qui présente une grande variabilité morphologique au niveau de la pigmentation de la carapace. Les résultats de l'étude moléculaire basée sur la réaction de polymérisation en chaîne, ont montré que les crevettes royales tunisiennes appartiennent à la même espèce *Melicertus (Penaeus) kerathurus* (Forskål, 1775) avec certaines variabilités génétiques. Ces résultats ont été approuvés suite à la construction de l'arbre phylogénétique des crevettes royales tunisiennes par la méthode « Maximum Parsimony ».

Les crevettes de la lagune de Bizerte sont séparées des autres populations étudiées, ce qui élimine l'hypothèse de la migration de cette ressource à travers le canal de Bizerte. Les séquences des individus issus des trois golfes de la Tunisie (Tunis, Hammamet et Gabès) sont regroupées ensemble en un seul



clade. Ceci explique bien la coloration similaire au niveau de la pigmentation des crevettes pêchées dans ces zones. En revanche, les séquences provenant des spécimens pêchés dans les lagunes de Boughrara et Biban se regroupent respectivement en sous-clades avec ceux des individus issus de la pêche côtière dans la région de Gabès et de Zarzis. Ces dernières sont fortement soutenues par des valeurs de bootstrap de (64%) et chaque sous clade rassemble les crevettes ayant des pigmentations similaires.

Cette étude moléculaire affirme l'absence de barrière entre les populations à l'échelle des côtes tunisiennes. La variabilité génétique ainsi que celle morphologique au niveau de la pigmentation semblent refléter l'hétérogénéité environnementale des zones de présence de la crevette royale tunisienne ainsi que le régime alimentaire.

Mots clés : Positionnement phylogénétique, crevette royale, *Melicertus (Penaeus) kerathurus*, eaux tunisiennes.

1. Introduction

Les crustacés présentent un intérêt commercial, nutritionnel et économique de grande valeur que ce soit à l'échelle nationale ou mondiale. La crevette reste, à elle toute seule, le produit le plus important en termes de valeur puisque, en 2010, elle a représenté approximativement 15 % de la valeur totale des produits halieutiques qui ont fait l'objet d'un commerce international (FAO, 2012). Les pêches de crevettes engendrent des recettes économiques considérables, en particulier pour de nombreux pays en développement. En Tunisie, en raison de l'absence de toute forme d'élevage de crustacés, la production totale des crevettes correspond aux apports de la pêche. Dans les eaux tunisiennes trois espèces de crevettes, de grande valeur commerciale, sont exploitées : les crevettes côtières *Melicertus (Penaeus) kerathurus* (Forskål, 1775), la crevette blanche *Metapenaeus monoceros* (Fabricius, 1798) et la crevette rose de profondeur *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846). *Melicertus (Penaeus) kerathurus* est largement distribué en Méditerranée et au nord-est de l'océan Atlantique (Arculeo et al., 2010). Cette dernière est la principale espèce de crustacés exploités en Tunisie. Elle est pêchée dans différents endroits tout le long des côtes tunisiennes (lagune de Bizerte, golfe de Tunis, zone du Sahel, golfe de Gabès, lagune du Biban et lagune de Boughrara) au moyen du chalut benthique du type crevettier et aux filets trémails. Par ailleurs, c'est dans la zone méridionale représentée par le golfe de Gabès que sont localisées les plus grandes concentrations de la crevette royale *M. kerathurus*. C'est à partir de cette région que provient l'essentiel des débarquements de cette espèce. La production tunisienne en crevette royale atteignant en moyenne 1110 tonnes/an, représentent près de 85% des mises à terre totales des Crustacés pêchés en Tunisie (DGPA, 2012).

L'un des objectifs majeurs de l'étude génétique est de parvenir à une meilleure compréhension des mécanismes de maintien du polymorphisme des populations naturelles et des relations entre le polymorphisme et les conditions de l'environnement. La génétique des populations des crustacés est liée à leur diversité, en particulier au mode de vie. La variabilité génétique des populations est influencée par les paramètres physiques et chimiques du milieu, leur fluctuation temporelle et spatiale et par le comportement trophique des espèces. Ces facteurs de sélection, qui contrôlent la structure génétique des populations, influent aussi sur les paramètres démographiques. L'évaluation des ressources génétiques est considérée comme le point de départ pour une meilleure stratégie d'aménagement des ressources pêchées. Les études de la variabilité génétique ciblant la crevette royale *Melicertus (Penaeus) kerathurus* sont rares. *M. kerathurus* des eaux tunisiennes présente une grande variabilité morphologique au niveau de la pigmentation de la carapace avec une coloration variable des bandes transversales selon la zone de pêche. Le but de cette étude est de déterminer la structure génétique des populations de crevettes royales tunisiennes et de compléter les résultats de Zitari-Chatti et al. (2009) qui ont détecté une diversité génétique faible avec une différenciation génétique significative entre les populations de crevettes de l'Est et de l'Ouest des eaux tunisiennes. Les travaux de ces auteurs se sont focalisés uniquement sur les crevettes des golfes tunisiens. En revanche, la présente étude vise à élargir la zone d'échantillonnage et à analyser les crevettes d'origine lagunaire qui n'ont pas fait l'objet d'étude dans des travaux antérieurs. De plus, au cours de ce travail, on a essayé de faire une corrélation entre la différenciation génétique et la variabilité de la coloration au niveau des carapaces de ces crustacés.

2. Matériel et méthodes

Les crevettes ont été collectées à partir de 9 sites d'échantillonnage le long des côtes tunisiennes. Les coordonnées géographiques des lieux de collecte de *Melicertus (Penaeus) kerathurus* ainsi que la couleur caractéristique des bandes au niveau de la carapace des crevettes de chaque zone sont détaillés dans le tableau 1.

Tableau 1. Détails des zones d'échantillonnage de *Melicertus (Penaeus) kerathurus* des eaux tunisiennes associé à la couleur caractéristique de la carapace.

Zone de pêche	Coordonnées Géographiques	Couleur
Lagune de Bizerte (Menzel Abderrahman)	37°14'13N ; 9°51'46E	Marron-verdâtre
Golfe de Tunis (Ghar El Melh)	37°00'N; 10°30'E	Orangé
Golfe de Hammamet	36°18'57N; 11°23'52E	Orangé
Zone du Sahel (Monastir)	35°45'N; 10° 50'E	Orangé
Golfe de Gabès (Zone côtière)	34°44'N; 10°46'E	Orangé
Golfe de Gabès (Large du golfe)	34°05'37N; 10°26'13E	Orangé-marron
Lagune Boughrara	33°35'52N; 10°48'12E	Bleu-verdâtre
Zarzis (Frontière tuniso-libyenne)	33°30'14N; 11°6'43E	Orangé-marron
Lagune El Biban	33°16'0N; 11°19'0E	Bleu-grisâtre

Les crevettes originaires de la lagune de Bizerte, du golfe de Tunis, de la zone du Sahel, de la zone côtière du golfe de Gabès, de la lagune El Biban et de la lagune de Boughrara sont capturées en utilisant des filets trémails en polyamide. Le maillage des voiles utilisé est variable selon la région (de 22 à 26mm côté de maille), alors que celui des tables est de 140mm en polyamide câblé. Les spécimens issus du golfe de Hammamet, le large du golfe de Gabès et ceux de la zone de Zarzis sont pêchés à l'aide du chalut benthique du type crevettier dont le maillage au niveau du sac est de 20mm côté de maille. Cet engin est le plus utilisé en Tunisie pour la pêche des crevettes (Mili, 2013). A partir de chaque site d'échantillonnage, six spécimens de crevette royale ont été collectés. Le tissu musculaire extrait des crevettes fraîches est immédiatement congelé à -80°C.

Extraction d'ADN, amplification et analyse des séquences

Le gène du cytochrome oxydase 1 (COI) a été séquencé pour détecter la structure génétique des populations. L'ADN génomique a été extrait en utilisant le kit Nucleospin. L'amplification du COI a été réalisée par Polymerase Chain Reaction (PCR) avec deux paires d'amorces alternatives :

COI1 (5'-GGGTTCGTAGTCTGAGCACACC-3') et COI2 (5'-TTAGGGTTAAGGGTTAAGCCGG-3') (Lavery et al., 2004).

Le mélange de PCR d'un volume total de 50 µL, contenait 3 µL d'ADN génomique, 4 mM de MgCl₂, 0.16µM de chaque amorce, 480µM dNTPs, 1 U de Taq polymérase et dd H₂O. Le programme PCR consistait en : 3 min à 95 °C, 35 cycles à 94 °C pour 30 sec, 50 °C pour 30 sec et 72 °C pour 30 sec, et une étape finale à 72 °C pour 5 min. Les produits PCR ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose 1 %. Le séquençage des fragments de PCR a été réalisé sur une longueur de 374 paires de bases à l'Institut Pasteur de Tunis. Les séquences sont alignées à l'aide du programme BioEdit (Hall, 1999). Les analyses de reconstruction phylogénétique sont effectuées par la méthode de Maximum Parsimony (Saitou & Nei, 1987) avec une matrice basée sur la distance à deux paramètres de Kimura (1980) présente dans le logiciel de construction d'arbres phylogénétiques MEGA4.0.2 (Kumar et al., 1993) et moyennant une approche par recherche heuristique de Paup (Swofford, 1998). Pour positionner phylogénétiquement les séquences obtenues après PCR, des séquences de cytochrome c oxydase I (COI) de *Melicertus (Penaeus) kerathurus* ont été extraites de banques de gènes (Tabl. 2).

L'alignement des différences nucléotidiques entre les séquences est réalisé par le logiciel Clustal W. Le modèle Kimura 2-paramètre (Kimura, 1980) pour les substitutions des nucléotides a été utilisé en BOLD pour calculer les distances génétiques entre les individus (Tamura et al., 2007).

3. Résultats et discussion

Lors des campagnes de pêche à la crevette dans les eaux tunisiennes, plusieurs types de coloration au niveau de la carapace ont été observés. Ces colorations varient du rouge à l'orangé ou même marron ou bleu verdâtre (Tabl. 1). Des identifications moléculaires de ces crevettes ont été réalisées en extrayant, amplifiant et séquençant l'ADN de six spécimens de crevette royale *Melicertus (Penaeus) kerathurus* par zone de pêche, ayant par conséquent une pigmentation particulière, et en les positionnant phylogénétiquement par rapport à des séquences homologues des crevettes Pénéide extraites des banques de gènes.

Etude moléculaire

La région COI amplifiée avec les amorces universelles était généralement de 374 paires de bases (bp). Étant un gène qui code pour des protéines importantes dans la chaîne respiratoire, COI ne peut pas contenir des insertions ou délétions. La distance génétique à l'intérieur de l'espèce étudiée varie entre 0 et 0,01 %. Les séquences partielles étudiées révèlent de très faible variation entre les individus de *P. kerathurus* analysés (Tabl. 2). Ces résultats sont conformes à d'autres travaux sur d'autres espèces de pénéides (Quan et al., 2001, 2004 ; Chu et al., 2003 ; De Francisco et Galetti, 2005 ; Kumar et al., 2007). L'arbre construit à partir des séquences de crevettes Pénéide extraites des banques de gènes, incluant les neuf séquences réalisées pour cette étude, se subdivise en deux grands clades (Fig. 1). Les séquences de *Melicertus (Penaeus) kerathurus* constitue un groupe monophylétique très fortement supporté statistiquement (BP : 100) incluant les séquences obtenues à partir des crevettes royales de Tunisie. Le premier clade est uniquement constitué des haplotypes appartenant aux populations de (*Marsupenaeus japonicus*) qui forment un groupe monophylétique. Pour cela, cette espèce sera considérée comme l'out groupe des populations étudiées.

Le deuxième clade est divisé en deux groupes dont le premier est constitué uniquement par des haplotypes appartenant aux populations de *M. kerathurus* originaires de la lagune de Bizerte. Ce clade est supporté par des valeurs élevées de bootstrap (100%) ce qui peut suggérer un isolement génétique de ces populations par rapport aux autres populations étudiées. La coloration spécifique (marron-verdâtre) des crevettes en provenance de cette zone par rapport aux autres zones étudiées est donc bien expliquée génétiquement. Ce résultat supporte l'hypothèse d'une sous-population ou d'une population à part, mais il est commode de compléter ces travaux moléculaires par l'analyse des microsatellites pour confirmer cette hypothèse.

Le deuxième groupe du deuxième clade est divisé à son tour en trois sous-groupes constitués d'haplotypes supportés par de faibles valeurs de bootstrap qui sont de l'ordre de (37%).

Le premier sous-groupe est divisé à son tour en deux sous clade, dont le premier est constitué par les séquences de crevettes issues de la lagune d'El Biban de la présente étude et ceux de Zitari-Chatti et al., (2009). Le deuxième sous clade comporte les séquences de la lagune de Boughrara qui se sont alignées avec celles du golfe de Gabès. Ce groupe est supporté par des valeurs de bootstrap de l'ordre de 64%. Ces résultats peuvent confirmer l'hypothèse de l'existence d'une même sous populations dans le golfe de Gabès (zone côtière) et la lagune d'El Biban.

Les séquences des deux haplotypes provenant de crevettes sont strictement identiques alors qu'ils sont issus de stations différentes suggérant la présence dans cette région d'une seule population de *Melicertus (Penaeus) kerathurus*. Cependant, ce résultat peut être discuté selon la zone d'échantillonnage des crevettes royales (Zitari-Chatti et al., 2009). En effet, les échantillons de Zitari-Chatti et al. (2009) sont probablement pêchés dans la zone de communication entre la lagune de Boughrara et le golfe de Gabès. Ce résultat indiquant la grande similarité génétique entre les crevettes d'El Biban et de Boughrara (14%) explique bien la ressemblance morphologique au niveau des carapaces des individus (bleu verdâtre et bleu grisâtre) pêchés dans ces deux lagunes.

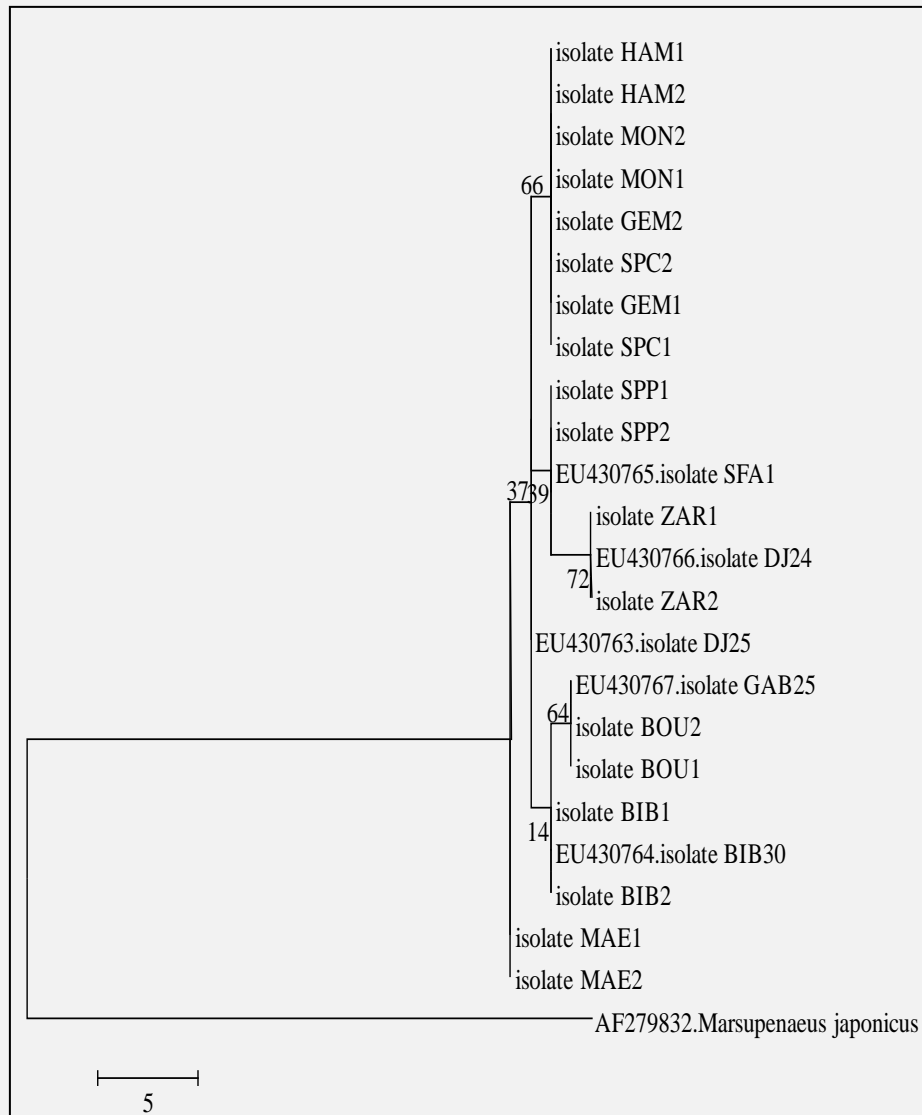


Figure 1. Arbre phylogénétique construit par la méthode « Maximum Parsimony » en utilisant 1000 bootstrap ; avec :BIB: Bibane, BOU: Boughrara, GAB: Gabes, GEM: Ghar El Melh, HAM: Hammamet, MON: Monastir, SPP: Sfax Pêche Profonde, SPC: Sfax Pêche cotière, ZAR: Zarzis, MAE: Manzel Abderrahman.

Le deuxième sous groupe est divisé aussi en deux sous clade, dont le premier est constitué d'haplotypes appartenant à des crevettes issues de Zarzis et de Djerba. Ce groupe est fortement supporté statistiquement par des valeurs de bootstrap de l'ordre de 72%. Ce qui montre qu'il s'agirait probablement de la même population puisque les crevettes proviennent de deux zones voisines, ayant une grande similarité dans les conditions environnementales. Le deuxième sous clade est constitué des séquences de crevettes du golfe de Gabès (large du Golfe) qui se sont alignées avec ceux de Sfax de Zitari-Chatti *et al.* (2009). Ce groupe est supporté par des valeurs de bootstrap de l'ordre de 39%. Ces valeurs mettent en évidence que les populations de crevettes royales du large du golfe sont proches génétiquement de celles de Sfax car elles appartiennent au même golfe. Cependant, les séquences extraites des crevettes de la région de Sfax (Zitari-Chatti *et al.*, 2009) sont probablement en provenance de la zone profonde du golfe de Gabès. Ces deux sous clades sont proches génétiquement (39%) ce qui confirme bien la similarité de la coloration des carapaces des crevettes pêchées au large du golfe de Gabès et dans la zone de Zarzis (Orangé-marron).

Le troisième groupe est constitué d'haplotypes appartenant à des individus de crevettes issues du golfe de Tunis, golfe de Hammamet, Zone de Sahel, et golfe de Gabès (zone côtière). Ce groupe est supporté

statistiquement par des valeurs de bootstrap de l'ordre de 66%. Ces résultats montrent que ces populations sont presque homogènes puisqu'elles vivent dans des conditions environnementales relativement similaires grâce à la communication entre les trois golfes surtout au niveau des zones côtières. On peut affirmer donc que ces crevettes, ayant la même coloration au niveau de la pigmentation de la carapace (orangé), ont une grande similarité génétique.

On peut conclure que toutes les crevettes royales tunisiennes appartiennent à la même espèce *Melicertus (Penaeus) kerathurus* ; de plus, aucune séparation génétique n'a été détectée à l'exception de celle des crevettes de la lagune de Bizerte qui reste à vérifier. Ces résultats sont de plus très cohérents avec plusieurs autres travaux, qui sur la base de paramètres morphologiques et moléculaires ont permis d'identifier des crevettes royales (Arculeo et al., 2010 ; Mattoccia et al., 1987 ; Pellerito et al., 2009 ; Zitari-Chatti et al., 2009).

Des études antérieures basées sur l'électrophorèse des protéines ont détecté de faibles variations génétiques chez l'espèce *Melicertus (Penaeus) kerathurus* (Mattoccia et al., 1987 ; Zitari-Chatti et al., 2009). Ces résultats semblent en conformité avec ceux rapportés par d'autres études sur les Pénéidés (Benzie, 2000). Mattoccia et al., (1987) n'ont pas trouvé une différenciation génétique au niveau de la population de crevette royale étudiée, alors que Zitari-Chatti et al., (2009) ont observé deux stocks qui apparaissent génétiquement isolés le long des côtes tunisiennes. Récemment, en utilisant le cytochrome c oxydase I région (COI) de l'ADNmt, Pellerito et al. (2009) ont étudié onze populations (neuf originaire de la Méditerranée et deux de l'océan Atlantique) et ils ont trouvé un niveau significatif de différenciation génétique au niveau des populations.

En outre, Zitari-Chatti et al. (2009), en utilisant le cytochrome c oxydase I (COI) et 16 Séquences du gène de l'ADN mitochondrial, ont trouvé un flux de gènes restreint le long du détroit Siculo-tunisien. Les marqueurs nucléaires, tels que les microsatellites, peuvent contribuer à la clarification des relations entre les populations. Ces résultats permettent de poser de nouvelles questions au sujet de la structure de la population de cette espèce. Toutefois, de nombreuses questions concernant le positionnement intra-générique et interspécifique restent sans réponse et seules des études portant sur un nombre élevé d'individus d'origines différentes et combinant l'utilisation de marqueurs nucléaires comme des microsatellites peuvent permettre de résoudre les positionnements précis au niveau spécifiques voire populationnels de ce taxon. Les marqueurs moléculaires peuvent permettre de détecter des isolements reproductifs au sein d'espèces cryptiques vivant en sympatrie, cela permet aussi d'infirmer ou de confirmer des introgressions suggérées par l'analyse mitochondriale.

Tableau 2. Matrice de l'évolution de la divergence entre les séquences de cytochrome c oxidase I (COI) de *Melicertus (Penaeus) kerathurus* des eaux tunisiennes

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	3		
1 isolate_MAE1	0,																							2	
2 isolate_MAE2	00	0,																							3
3 isolate_GEM1	01	01	0,																						
4 isolate_GEM2	01	01	00	0,																					
EU430767.isolat	0,	0,	0,	0,																					
5 e_GAB25	01	01	01	01																					
6 isolate_BOU1	0,	0,	0,	0,	0,																				
7 isolate_BOU2	01	01	01	01	00	00																			
EU430766.isolat	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,																	
8 e_DJ24	01	01	01	01	01	01	01																		
9 isolate_ZAR1	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,																
1 isolate_ZAR2	01	01	01	01	01	01	01	00	00																
1 EU430765.isolat	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,															
1 e_SFA1	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01															
1 isolate_SPP1	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,														
3 isolate_SPP2	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	00	00													
1 EU430764.isolat	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,												
4 e_BIB30	01	01	01	01	00	00	00	01	01	01	01	01	01												
1 isolate_BIB1	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,											
1 isolate_BIB2	01	01	01	01	00	00	00	01	01	01	01	01	01	00	00										
1 EU430763.isolat	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,									
7 e_DJ25	00	00	00	00	01	01	01	01	01	01	00	00	00	00	00	00									
1 isolate_MON1	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,								
9 isolate_MON2	01	01	00	00	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	00	00							
2 isolate_HAM1	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,						
2 isolate_HAM2	01	01	00	00	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	00	00	00	00					
2 isolate_SPC1	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,				
2 isolate_SPC2	01	01	00	00	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	01	00	00	00	00	00	00			

4. Conclusion

Cette étude a permis de montrer que les crevettes royales tunisiennes appartiennent à la même espèce *Melicertus (Penaeus) kerathurus* malgré la grande variabilité morphologique observée au niveau de la pigmentation des carapaces de ces crustacés. La variabilité génétique ainsi que morphologique semblent refléter l'hétérogénéité environnementale des zones de présence de la crevette royale tunisienne ainsi que le régime alimentaire de cette espèce.

Remerciements

Nous remercions vivement Khadija MERDASSI et Wided BAKKARI pour l'effort qu'elles ont déployé lors de la réalisation de la partie expérimentale de ce travail.

5. References bibliographiques

- Arculeo M, Pellerito R and Bonhomme F (2010)** Isolation and use of microsatellite loci in *Melicertus kerathurus* (Crustacea, Penaeidae). *Aquat Living Resour* 23: 103–107.
- Benzie JAH (2000)** Population genetic structure in penaeid prawns. *Aquacult Res* 31: 95-119.
- Chu KH, Li CP, Tam YK and Lavery S (2003)** Application of mitochondrial control region in population genetic studies of the shrimp *Penaeus*. *Mol Ecol Notes* 3:120-122.
- De Francisco AK and Galetti PM (2005)** Genetic distance between broodstocks of the marine shrimp *Litopenaeus vannamei* (Decapoda, Penaeidae) by mtDNA analyses. *Genet Mol Biol* 28 :258-261.
- DGPA (2012)** Annuaire des statistiques de pêche. Ministère de l'agriculture, Tunisie 1-218.
- FAO (2012)** La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2012 Rome 1-41.
- Hall TA (1999)** BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98
- Kimura M (1980)** A Simple Method for Estimating Evolutionary Rates of Base Substitutions Through Comparative Studies of Nucleotide Sequences. *J Mol Evol* 16: 111-120.
- Kumar N, Lakra WS, Majumdar KC, Goswami M and Ravinder K (2007)** Genetic diversity in the Indian population of *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798) as revealed by mtDNA sequence analysis. *Aquacult Res* 38: 862–869.
- Kumar S, Tamura K and Nei M (1993)** MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis. Ver. 1.0, The Pennsylvania State University, University Park PA.
- Tamura K, Dudley J, Nei M and Kumar S (2007)** MEGA 4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis. *Mol Biol Evol* 24(8): 1596-1599.
- Swofford D L (1998)** PAUP: phylogenetic analysis using parsimony and other methods. Version 4.0. *Sinauer Sunderland Mass.*
- Lavery S, Chan TY, Tam YK and Chuc KH (2004)** Phylogenetic relationships and evolutionary history of the shrimp genus *Penaeus s.l.* derived from mitochondrial DNA. *Mol Phylogenet Evol* 31: 39-49.
- Mattoccia M, La Rosa G, De Mattheis E, Coboldi-Sbordoni M and Sbordoni V (1987)** Patterns of genetic variabilità in Mediterranean populations of *Penaeus kerathurus* (Crustacea Decapoda). In: K Tiews (Ed) Selection, Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture. Heenemann-Verlag Berlin 131-142.
- Mili S, Ennouri R, Jarboui O and Missaoui H (2013)** Distribution and Abundance of the Mantis Shrimp *Squilla mantis* (Crustacea: Stomatopoda) in Tunisian Waters: Gulfs of Tunis, Hammamet and Gabes. *Greener Journal Life Sciences* 1: 01-13.
- Pellerito R, Arculeo M and Bonhomme F (2009)** Recent expansion of Northeast Atlantic and Mediterranean populations of *Melicertus (Penaeus) kerathurus* (Crustacea: Decapoda). *Fisheries Science* 75(5): 1089-1095.
- Quan J, Lu XM, Zhuang Z, Dai J, Deng J and Zhang Y P (2001)** Low genetic variation in *Penaeus chinensis* as revealed by mitochondrial COI and 16s rRNA gene sequences. *Biochem Genet* 39:279-284.
- Saitou N and Nei M (1987)** The Neighbor-joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. *Mol Biol Evol* 4: 406-425
- Zitari-Chatti R, Chatti N, Elouaer A and Said K (2008)** Genetic variation and population structure of the caramote prawn *Penaeus kerathurus (Forskål)* from the eastern and western Mediterranean coasts in Tunisia. *Aquacult Res* 39: 70-76.
- Zitari-Chatti R, Chatti N, Fulgione D, Caiazza I, Gennaro Aprea, Elouaer A, Khaled S and Capriglione T (2009)** Mitochondrial DNA variation in the caramote prawn *Penaeus (Melicertus) kerathurus* across a transition zone in the Mediterranean Sea. *Genetica* 136: 439-447.