
Étude de l'effet de la complexité structurale de l'environnement sur la morphologie de l'otolithe sacculaire (sagitta) du tilapia

Auteur : Huet, Emmanuelle

Promoteur(s) : Parmentier, Eric

Faculté : Faculté des Sciences

Diplôme : Master en biologie des organismes et écologie, à finalité approfondie

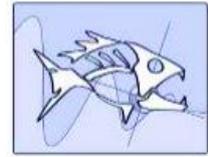
Année académique : 2023-2024

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/19400>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

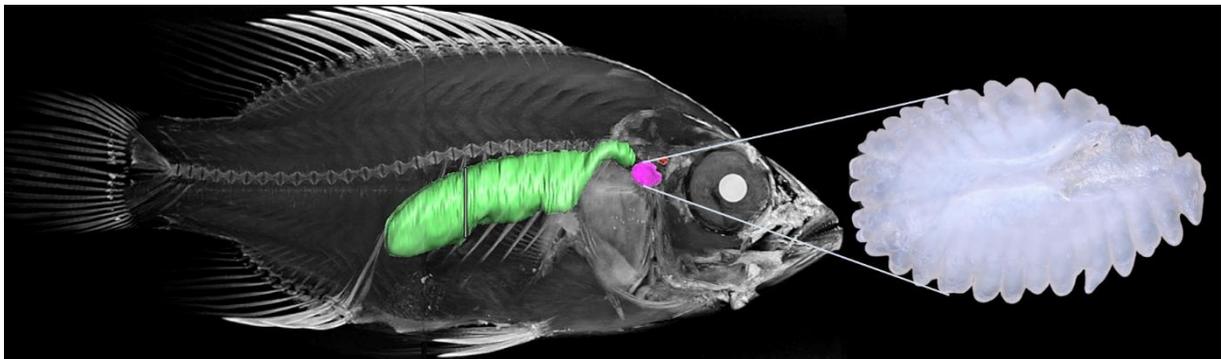


Université de Liège, Faculté des Sciences

Département de Biologie, Ecologie et Evolution

Laboratoire de Morphologie Fonctionnelle et Evolutive

**Etude de l'effet de la complexité structurale de
l'environnement sur la morphologie de
l'otolithe sacculaire (*sagitta*) du tilapia
*Oreochromis niloticus***



Auteur : Emmanuelle Huet, Master BOE, Uliege

Promoteur : Professeur Éric Parmentier

Encadrant : Arthur Van Damme

Remis le : 19 janvier 2024

Remerciements

En premier lieu, je remercie le Professeur Éric Parmentier de m'avoir accueillie dans son laboratoire pour la réalisation de ce sujet de mémoire. Les opportunités d'apprentissage et de découvertes, ainsi que son enthousiasme à ce que nous nous y prêtions, ont été formateurs durant cette année. Merci également pour son attitude encourageante à poursuivre des objectifs scientifiques qui nous motivent.

Je remercie particulièrement Arthur Van Damme (*Sagittaman*) de m'avoir confié ce sujet de mémoire riche en apprentissage. Son encadrement a été un levier considérable dans ma formation scientifique grâce aux techniques, aux méthodes statistiques, réflexions, mode d'écriture et d'expression que j'ai pu entraîner/acquérir durant cette année, et pour lesquels il m'a accompagné avec beaucoup de patience et de rigueur. Je le remercie également pour sa disponibilité et son investissement constants dans ce projet, ainsi que pour sa sympathie, qui ont permis le déroulement parfait de cette année de mémoire.

Je remercie également les doctorants du laboratoire de Morphologie fonctionnelle et Evolutive pour leur disponibilité et leur aide additionnelle tout au long de l'année.

Je tiens à remercier les proches qui m'ont soutenu dans cette sacrée idée de faire des études en sciences biologique après un bref passage par une profession d'infirmière.

J'adresse de chaleureux remerciement à mes beaux-parents Véronique et Robbie, pour tout leur amour depuis qu'ils m'ont adoptée dans leur vie. Cette dernière année et ce projet de mémoire ne se seraient, par ailleurs, pas si bien écrits sans les meilleures crêpes au monde faites par ma belle-mère.

Enfin, je remercie de tout cœur mon futur paléontologue préféré, Melvin Vankelst. Je le remercie pour ces moments à m'écouter/me lire à propos d'otolithes, et surtout pour la pertinence scientifique dont il a fait preuve pendant ces discussions. Ses connaissances, son esprit critique et sa curiosité n'ont fait que renforcer mon enthousiasme pour un tel travail de recherche. Et bien sûr, je le remercie d'avoir rendu cette année aussi agréable qu'elle pouvait l'être, par son affection, son humour, son soutien inébranlable et surtout, surtout, ses encouragements incessants à soulever des poids lourds à la salle de sport.

Résumé

La forme de l'otolithe sacculaire (*sagitta*) des téléostéens présente des variations génétiques et environnementales ayant été bien documentées. Cependant, les études écomorphologiques ont formulé des hypothèses sur l'influence de spécificités environnementales (habitat dans la colonne d'eau, paramètres physico-chimiques, mode de vie du poisson), sans tester expérimentalement de facteur susceptible de modifier la forme des *sagittae*. L'objectif de ce mémoire est de quantifier l'impact d'un environnement plus ou moins complexe sur la morphologie de la *sagitta* du tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*). Étant donné la double fonction de l'oreille interne (auditive et vestibulaire), les capacités auditives des poissons ont été testées pour déterminer si une variation de forme des *sagittae* était liée à la fonction auditive. Le dispositif expérimental consistait en l'élevage de 160 mâles juvéniles issus de la même fratrie, durant 5 mois dans 4 aquariums (n=40/aquarium) où seule la complexité structurale de l'environnement variait. La complexité, modélisée par des chaînes suspendues dans l'aquarium d'élevage, variait de 0 chaînes/m² (condition contrôle) à 120 chaînes/m² (condition complexe), deux extrêmes sur lesquels nous avons finalement focalisé les analyses. Au terme de l'élevage, des poissons ont été soumis à des tests auditifs par la technique de l'*auditory evoked potential* ; les autres poissons ont été euthanasiés et disséqués pour récupérer leurs *sagittae*. Chaque *sagitta* gauche a été photographiée et mesurée par microscopie optique numérique de haute résolution (Keyence© VHX-7000) pour des analyses 2D et des calculs d'indices de forme; ces *sagittae* ont également été scannées et modélisées en 3D pour être analysées par la géométrie morphométrique classique - utilisant un nombre restreint de *landmarks* et *semilandmarks* - et de haute densité de *semilandmarks* de surface. Nos résultats ont montré, pour une taille de corps équivalente, une augmentation de la taille (longueur, largeur, surface, périmètre et volume) des *sagittae* des individus issus de la condition complexe, sans modification des capacités auditives. L'analyse des indices de forme et la géométrie morphométrique n'a pas mis en évidence de variation de forme des *sagittae* selon la condition expérimentale dont les poissons étaient issus. Si l'on pouvait suspecter l'influence d'environnements plus complexe (littoraux, fonds, etc.) sur la taille des *sagittae*, cette étude a permis d'en poser les bases expérimentales, et suggère l'importance de la fonction vestibulaire comme contrainte de forme des otolithes.

Abstract

The shape of the saccular otolith (*sagitta*) in teleosts is subject to well-documented genetic and environmental variations. However, ecomorphological studies have hypothesized the influence of the specifics of the environment (water depth, physico-chemical parameters, etc.), without experimentally testing any factors likely to modify *sagitta* shape. The objective of this master thesis is to quantify the impact of a more or less complex environment on the morphology of the *sagitta* of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Given the dual function of the inner ear (auditory and vestibular), the auditory capabilities of the fish have been tested to determine if a variation in *sagitta* shape is linked to auditory function.. The experimental set-up involved rearing 160 juvenile male Nile tilapia from the same sibling for 5 months in 4 aquariums (n=40/aquarium) where only the structural complexity of the environment varied. Complexity, modeled by chains suspended in the rearing aquarium, ranged from 0 chains/m² (control condition) to 120 chains/m² (complex condition), two extremes on which we ultimately focused our analyses. At the end of the rearing period, some fish were subjected to auditory tests using the auditory evoked potential technique; the remaining fish were euthanized and dissected to recover their *sagittae*. Each left *sagitta* was photographed and measured by high-resolution digital optical microscopy (Keyence© VHX-7000) for 2D analysis and shape index calculations; these *sagittae* were also scanned and modeled in 3D for analysis by classical morphometric geometry - using a limited number of landmarks and semilandmarks - and high-density surface semilandmarks. Our results showed, for an equivalent body size, an increase in the size (length, width, surface area, perimeter and volume) of the *sagittae* of individuals from the complex condition, with no change in hearing ability. Analysis of shape indices and morphometric geometry revealed no variation in *sagittae* shape according to the experimental condition from which the fish were derived. While we might have suspected the influence of more complex environments (coastline, seabed, etc.) on *sagittae* size, this study has laid the experimental foundations, and suggests the importance of vestibular function as a constraint on otolith shape.

Table des matières

1. Introduction.....	p1
1.1. Anatomie de l'oreille interne des téléostéens.....	p1
1.1.1. Le labyrinthe membraneux.....	p1
1.1.2. Les otolithes.....	p4
1.1.3. Connectivité de l'oreille interne.....	p5
1.2. Intégration sensorielle de l'appareil stato-acoustique.....	p6
1.3. Diversité de l'oreille interne.....	p7
1.4. La sagitta : utilisation, morphologie et écomorphologie.....	p7
1.4.1. Morphologie de la sagitta.....	p7
1.4.2. Intérêt de l'étude de la sagitta.....	p9
1.4.3. Ecomorphologie de la sagitta.....	p10
1.5. Quantification de la forme de la sagitta et géométrie morphométrique.....	p11
1.6. Objectifs	p13
2. Matériel et méthodes.....	p14
2.1. Elevage et condition expérimentales.....	p14
2.2. Dissection.....	p15
2.3. Test des capacités auditives des poissons expérimentaux.....	p16
2.3.1. Auditory evoked potential.....	p16
2.3.2. Bruit ambiant dans les aquariums expérimentaux.....	p18
2.4. Mesures linéaire 2D et indices de forme	p18
2.5. Géométrie morphométrique 3D.....	p20
2.5.1. Acquisition des scans et modélisation.....	p20
2.5.2. Géométrie morphométrique.....	p20
2.6. Traitement des données et analyses statistiques.....	p23
2.6.1. Auditory evoked potential.....	p23
2.6.2. Analyse des mesures linéaires.....	p23
2.6.3. Analyses des données 3D.....	p24
3. Résultats.....	p26
3.1. Test des capacités auditives des poissons expérimentaux	p26
3.2. Analyse des mesures linéaires 2D et indices de forme.....	p28
3.2.1. Tests statistiques sur les mesures linéaire et le volume.....	p28
3.2.2. Tests statistiques sur les indices de forme.....	p33
3.3. Géométrie morphométrique 3D.....	p34
3.3.1. Epaisseur des sagittae.....	p34
3.3.2. Géométrie morphométrique classique.....	p34
3.3.3. Géométrie morphométrique de haute densité de semilandmarks de surface.....	p36

4. Discussion.....	p39
4.1. La condition expérimentale influence la taille des sagittae.....	p39
4.2. La condition expérimentale n'influence pas la forme des sagittae.....	p41
4.3. Les capacités auditives des tilapias sont similaires entre les conditions expérimentales.....	p42
4.4. Croissance et allométrie des sagittae.....	p43
4.5. Méthodes de quantification de la sagitta.....	p44
5. Conclusion.....	p45

Bibliographie

Annexes

1. Introduction

Les téléostéens forment une sous-classe au sein des Actinoptérygiens (Betancur-R et al., 2017) et constituent le groupe de vertébrés le plus diversifié avec environ 27 000 espèces (Glasauer & Neuhauss, 2014). Ils dominent largement les écosystèmes aquatiques actuels, qu'ils soient marins ou dulcicoles, grâce à leur diversité morphologique et physiologique (Price et al., 2019). Au sein de cette pluralité de formes, l'oreille interne est un organe ayant connu une diversification morphologique particulièrement importante (Ladich & Schulz-Mirbach, 2016).

1.1 Anatomie de l'oreille interne des téléostéens

1.1.1 *Le labyrinthe membraneux*

L'oreille interne est constituée de deux "labyrinthes membraneux", remplis de l'endolymphe, un liquide similaire au plasma sanguin et riche en ions potassium. Ils sont disposés symétriquement de part et d'autre de la *medulla oblongata* (région *caudale* du cerveau). Chaque labyrinthe est constitué de trois canaux semi-circulaires et trois organes otolithiques (fig. 1). On distingue généralement la partie supérieure de l'oreille interne (*pars superior*), comprenant les trois canaux semi-circulaires et un des organes otolithiques, l'utricule, de sa partie inférieure (*pars inferior*) qui comprend les deux autres organes otolithiques : le saccule et la lagena. Les canaux semi-circulaires trouvent leur origine au niveau de l'utricule et sont positionnés perpendiculairement les uns par rapport aux autres dans les 3 plans de l'espace, le canal latéral étant disposé horizontalement par rapport aux plans définis par le canal vertical antérieur et le canal vertical postérieur qui sont unis au niveau du canal commun (Kasumyan, 2004).

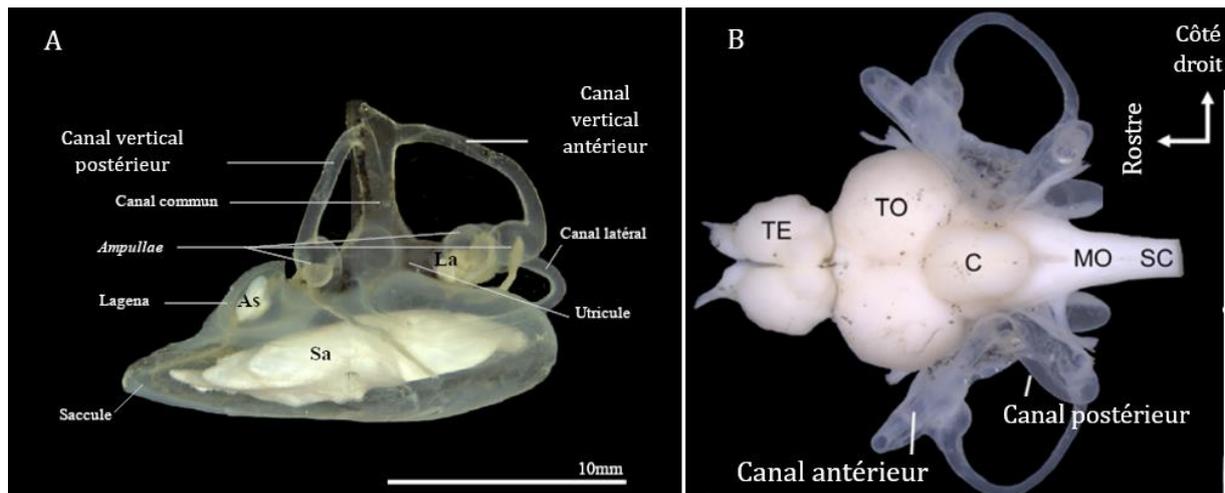


Figure 1. Anatomie du cerveau et de l'oreille interne de téléostéen. A) Oreille interne droite d'*Antimora rostrata* (Moridae) montrant les trois canaux semi-circulaires ainsi que les trois sacs otolithiques, chacun contenant son otolithe respectif visible par transparence. As = asteriscus, Sa = saccule, La = lapillus (modifié de Deng *et al.* (2011)) ; B) Vue dorsale du cerveau et des oreilles internes de *Poecilia mexicana* (Poeciliidae). TE = télencéphale, TO = tectum optique, C = cervelet, MO = *medulla oblongata*, SC = corde spinale (modifié de Schulz-Mirbach *et al.*, 2011).

Les ampoules situées à la base des canaux semi-circulaires et les organes otolithiques présentent chacun un épithélium sensoriel constitué de cellules ciliées. Les ampoules ont un épithélium appelé *crista*, tandis que les organes otolithiques ont une *macula* (Edds-Walton, 2008). Le plateau ciliaire formé à la face apicale de chacune des cellules de la *macula* présente un unique kinocil excentré et de nombreux stéréocils recouvrant le reste de la face cellulaire (fig. 2). Les cellules sensorielles de chaque *macula* sont organisées en différents groupes régionaux dont les cils sont orientés dans la même direction. Ensemble, ces groupes de cellules sensorielles se combinent pour former un *pattern* d'orientation des cils au sein de la *macula* (fig. 3) (Popper & Coombs, 1982). La morphologie de la *macula* ainsi que le *pattern* d'orientation des cils des cellules sensorielles est propre à chaque organe otolithique. Plus particulièrement, la *macula sacculi* (l'épithélium sensoriel du saccule) possède une région rostrale élargie et une région *caudale* étroite caractéristique (Ladich & Schulz-Mirbach, 2016).

L'utricule, le saccule et la lagena (organes otolithiques), forment des sacs dans lesquels se trouvent un otolithe : le *lapillus*, la *sagitta* et l'*asteriscus*, respectivement. Ces otolithes recouvrent entièrement ou partiellement la *macula* par l'intermédiaire de la "membrane otolithique" (fig. 2) (Schulz-Mirbach *et al.*, 2014). Cette dernière ne possède pas les propriétés histologiques d'une membrane mais plutôt celle d'une matrice gélatineuse se trouvant en

contact avec les stéréocils, faisant ainsi le lien entre l'épithélium sensoriel et l'otolithe (Webb et al., 2008).

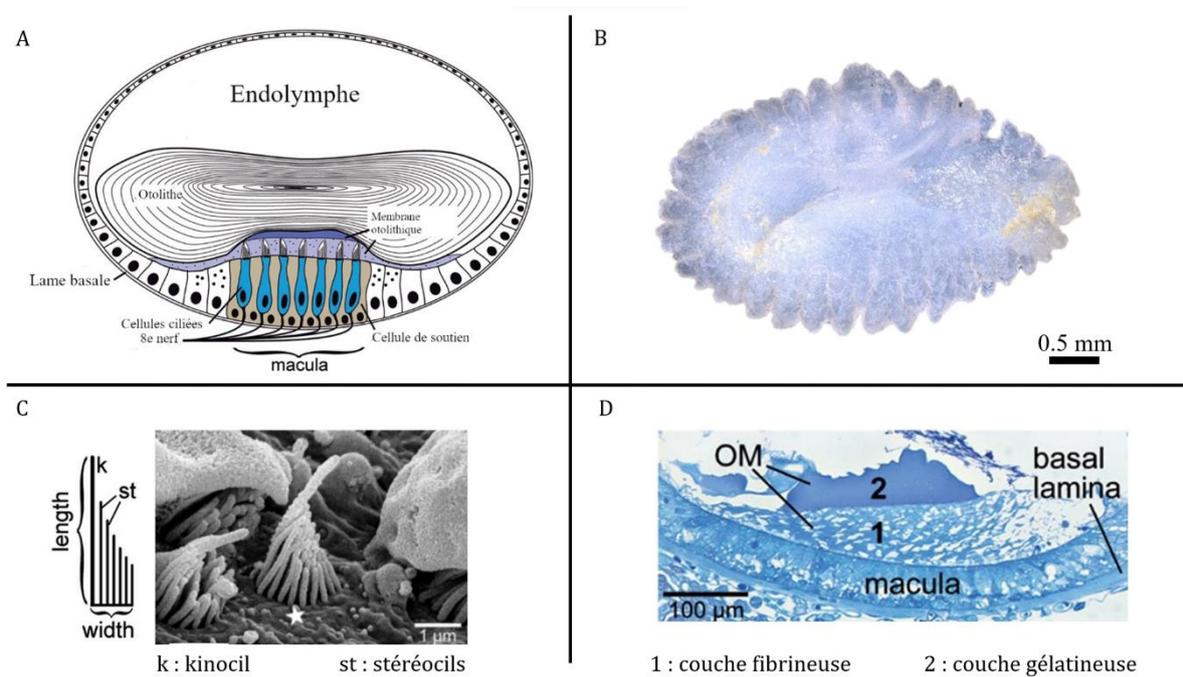


Figure 2. Les différents composants d'un organe otolithique. A : schéma général de l'organe otolithique montrant les interactions de ses composants ; B : photographie d'une *sagitta* gauche d'*Oreochromis niloticus* ; C : plateau ciliaire d'une cellule de la *macula* en microscopie électronique ; D : membrane otolithique en microscopie optique (modifié de Schulz-Mirbach et al., 2019 ; Schulz-Mirbach et al., 2014).

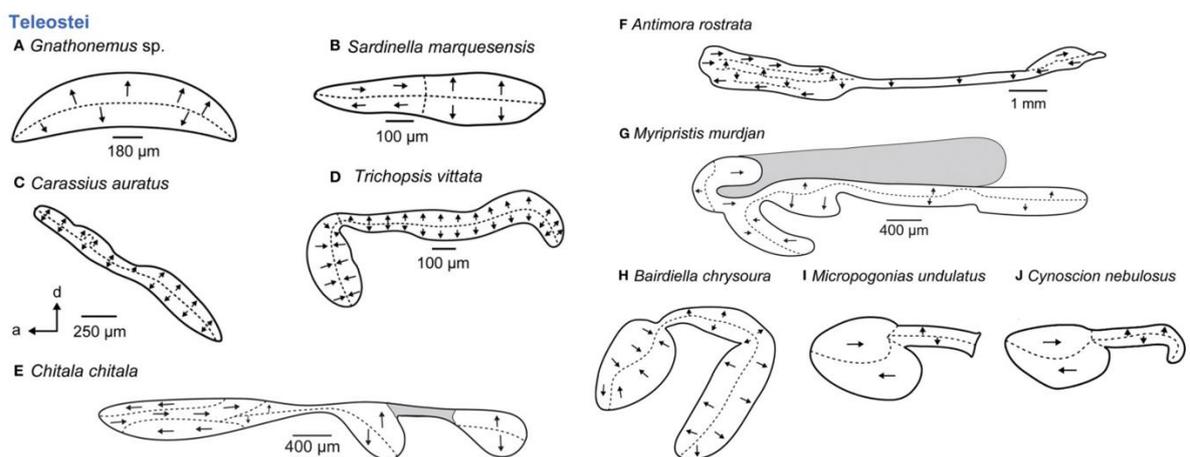


Figure 3. Représentation schématique d'exemples de *patterns* d'orientation des cils de la *macula sacculi* de diverses espèces de téléostéens montrant la diversité de ces *patterns*, d'après Ladich & Schulz-Mirbach (2016). Les flèches noires représentent le sens dans lequel un groupe de cils de la *macula* est orienté.

1.1.2 Les otolithes

Les otolithes sont des structures calcifiées constituées d'une alternance de couches de cristaux de carbonate de calcium et de matrice organique acellulaire, se déposant graduellement durant toute la vie du poisson, dès le dernier stade de développement dans l'œuf. Ils se développent à partir d'un (ou plusieurs) *primordia(e)* partiellement calcifié et exocyté depuis les cellules épithéliales de l'oreille interne. Le(s) *primordia(e)* constitue(nt) le(s) noyau(x) (*nucleus*) que l'on distingue au centre des otolithes (Lecomte-Finiger, 1999). Les otolithes ont une masse allant de quelques milligrammes à grammes (Deges et al., 1969 ; Dunkelberger et al., 1980) et mesurent, selon les espèces, entre 0.4 et 31.4 mm (Paxton, 2000). Les otolithes des téléostéens actuels sont composés d'aragonite (excepté l'*asteriscus* qui est en vaterite la plupart du temps) ce qui constituerait une adaptation au milieu aquatique, par rapport aux tétrapodes dont la composition des otolithes est en calcite (Schulz-Mirbach et al., 2014). Le dépôt des couches minérales et organiques qui composent les otolithes est caractérisé par une rythmicité saisonnière, mensuelle mais aussi journalière, donnant aux otolithes leur aspect strié avec l'alternance de bandes transparentes et opaques (Campana & Thorrold, 2001; Morales-Nin, 2000; Pannella, 1971). La périodicité journalière du dépôt est par ailleurs liée aux variations métaboliques inhérentes au rythme nyctéméral de l'animal (Tohse & Mugiya, 2002).

La membrane otolithique est composée de deux couches : une couche fibreuse étendue et une couche gélatineuse (fig. 2) restreinte à un large sillon situé sur la face mésiale de l'otolithe au niveau de la *macula*. Ce sillon porte un nom différent en fonction de l'otolithe ; dans le cas de la *sagitta*, il est nommé *sulcus acusticus*. Le développement de la *macula* et du sillon des otolithes, en particulier ceux de la *sagitta* et de l'*asteriscus*, est interdépendant, de telle sorte que la morphologie du sillon épouse parfaitement les irrégularités de la structure de la *macula* (Dunkelberger et al., 1980; Schulz-Mirbach et al., 2011).

1.1.3 Connectivité de l'oreille interne

En l'absence de cavité gazeuse entourée d'une membrane, les poissons détectent uniquement les mouvements particuliers associés au son. De nombreux téléostéens possèdent des organes qualifiés de "structures auditives accessoires" en lien avec l'oreille interne et qui permettent l'amélioration de la fonction auditive en étant capables de détecter les variations de pression (Ladich & Schulz-Mirbach, 2016). Ces structures impliquent généralement des cavités remplies de gaz, comme la vessie natatoire, et se trouvent à proximité ou en contact plus ou moins direct avec le labyrinthe membraneux (Kasumyan, 2005). Avec la présence de telles structures, l'oreille interne peut indirectement être sensible à la composante de pression associée aux sons. Dans ce cas, l'alternance de compressions et décompressions du gaz contenu dans la vessie natatoire peut créer un deuxième champ de mouvements particuliers qui peut alors être aussi détecté au niveau de l'oreille interne (Rogers et al., 1988).

Popper & Fay (2011) ont proposé d'envisager les capacités auditives des poissons sous forme d'un continuum caractérisé par la sensibilité à la pression (fig. 4), plutôt que comme une dichotomie entre les poissons « spécialistes de l'audition » et les poissons « généralistes ». À la base de ce continuum se trouvent les poissons otophysiens (Otophysi) qui possèdent une connexion particulière (« otophysique ») de l'oreille interne avec leur vessie natatoire, l'appareil de Weber (Weber, 1820). Cet appareil de Weber consiste en une chaîne d'osselets transmettant les vibrations de la vessie natatoire à l'oreille interne (Ladich & Schulz-Mirbach, 2016). Les Mormyridae quant à eux, possèdent une extension antérieure de la vessie natatoire qui s'est complètement détachée de cette dernière et agit comme membrane tympanique localisée directement sur le système vestibulaire (Stipetic, 1939). À l'autre extrémité du continuum se trouvent les poissons sans vessie natatoire (ex. : les requins et poissons plats) et donc insensibles à la pression. Au sein de ce continuum, les poissons peuvent avoir une extension antérieure de la vessie natatoire atteignant et entrant en contact avec la capsule otique ; ils peuvent également avoir une vessie natatoire se trouvant à proximité de la capsule otique mais sans contact direct avec celle-ci (Nelson, 1955).

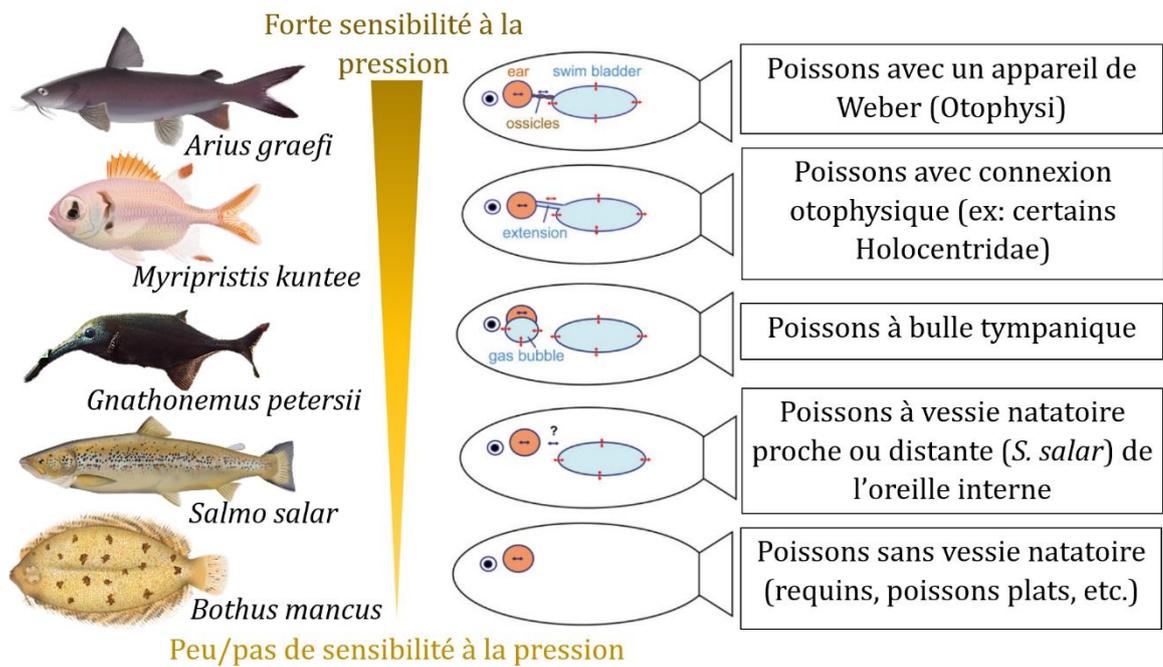


Figure 4. Illustration de la connectivité de l'oreille interne et du continuum de la sensibilité à la pression des poissons (inspiré de Popper & Fay, 2011) avec schéma illustrant le lien entre la vessie natatoire et l'oreille interne (Ladich & Schulz-Mirbach, 2016) et un exemple d'espèce de poisson pour chacun des schémas (images de : Marinewise, s.d. ; Definitive guide to elephantnoses, 2016).

1.2 Intégration sensorielle de l'appareil stato-acoustique

Les organes otolithiques sont impliqués dans la détection d'accélération linéaire, dans le contrôle et la régulation de la position statique du poisson et dans la détection de sons (Campana & Thorrold, 2001). Les organes otolithiques seraient impliqués différemment dans leur contribution aux fonction auditive ou vestibulaire (Schulz-Mirbach et al., 2019). D'après une étude de Von Frisch (1938), l'ablation de l'oreille interne supérieure provoque une perte totale du sens de l'équilibre. L'utricule serait donc davantage impliquée dans l'équilibre alors que le saccule et la lagena seraient principalement responsables de l'audition. Selon l'hypothèse de la « fonction mixte », il est communément admis que chaque organe otolithique contribue à la fois à la fonction vestibulaire et la fonction auditive (Schulz-Mirbach et al., 2019).

Le mécanisme physiologique qui sous-tend le fonctionnement de l'organe otolithique repose sur une différence de densité ou de viscosité d'une structure par rapport à l'endolymphe dans laquelle l'ensemble est immergé (Popper & Lu, 2000). Lorsqu'un mouvement particulière (dû à un son) a lieu, ou lorsque le poisson se met en mouvement, l'otolithe qui est trois fois plus dense que les tissus mous du poisson a un mouvement retardé par rapport à l'endolymphe à

cause de son inertie. Cela entraîne un mouvement relatif des cils de l'épithélium par rapport à l'otolithe (Schulz-Mirbach et al., 2019). Le mouvement de l'otolithe par rapport à la *macula* (ou de la *cupula* par rapport à la *crista* dans les *ampullae*) est responsable de forces latérales s'appliquant sur les stéréocils du côté apical des cellules sensorielles. Lorsque le faisceau de stéréocils se plie sous l'effet de ces forces et en fonction de la direction du repliement par rapport au kinocil, une dépolarisation peut avoir lieu et engendrer un potentiel d'action. Comme l'épithélium sensoriel du labyrinthe membraneux est innervé au niveau de la membrane basale, le potentiel d'action est transmis et l'information est relayée au cerveau de l'animal (Kasumyan, 2004).

1.3 Diversité de l'oreille interne

La structure de l'oreille interne et des organes auditifs accessoires est particulièrement diversifiée chez les téléostéens (Popper & Coombs, 1982). La morphologie globale de l'oreille interne possède des caractéristiques quantifiables, par exemple, la taille relative de l'oreille interne au cerveau de l'animal, l'attachement plus ou moins important du labyrinthe membraneux au crâne, la distance entre les oreilles gauche et droite, une connexion éventuelle entre celles-ci, etc. Globalement, la diversité structurale observée au niveau du saccule et de la lagena est bien supérieure à celle observée au niveau des canaux semi-circulaires et de l'utricule. Néanmoins, les canaux semi-circulaires peuvent différer dans leur épaisseur et leur rayon (Ladich & Schulz-Mirbach, 2016). La forme et la taille des otolithes, et en particulier la *sagitta*, sont très diversifiés, et l'étude de ces caractéristiques a permis de distinguer un certain nombre de groupes taxonomiques (Nolf et al., 2009 ; Tuset et al., 2016).

1.4 La *sagitta* : utilisation, morphologie et écomorphologie

1.4.1 Morphologie de la *sagitta*

La nomenclature morphologique générale reprise dans de nombreuses études se réfère à celle de Chainé et Duvergier (Chainé & Duvergier, 1934) (fig. 5). La face mésiale est orientée vers l'intérieur du corps du poisson et présente le *sulcus acusticus*. Par opposition, la face médiale est orientée vers le milieu extérieur. Une des caractéristiques principales de la partie antérieure de la *sagitta* est le rostre, auquel s'oppose parfois l'anti-rostre. Enfin, la partie supérieure de l'otolithe est la partie dorsale et la partie inférieure est la partie ventrale. Le *sulcus acusticus* est délimité par une *crista* supérieure et une *crista* inférieure. En général, l'ouverture antérieure du *sulcus* donne sur l'*ostium* qui désigne la partie élargie du *sulcus* ; cette partie est

souvent suivie par une partie allongée et plus fine nommée *cauda* (Nolf et al., 2009). Le *sulcus acusticus* de la *sagitta* possède des caractères morphologiques distinctifs entre espèces. Selon de nombreux auteurs, ce serait un paramètre important de l'étude de la morphologie de la *sagitta* pour la détermination d'espèces (Torres et al., 2000 ; Wright et al., 2002).

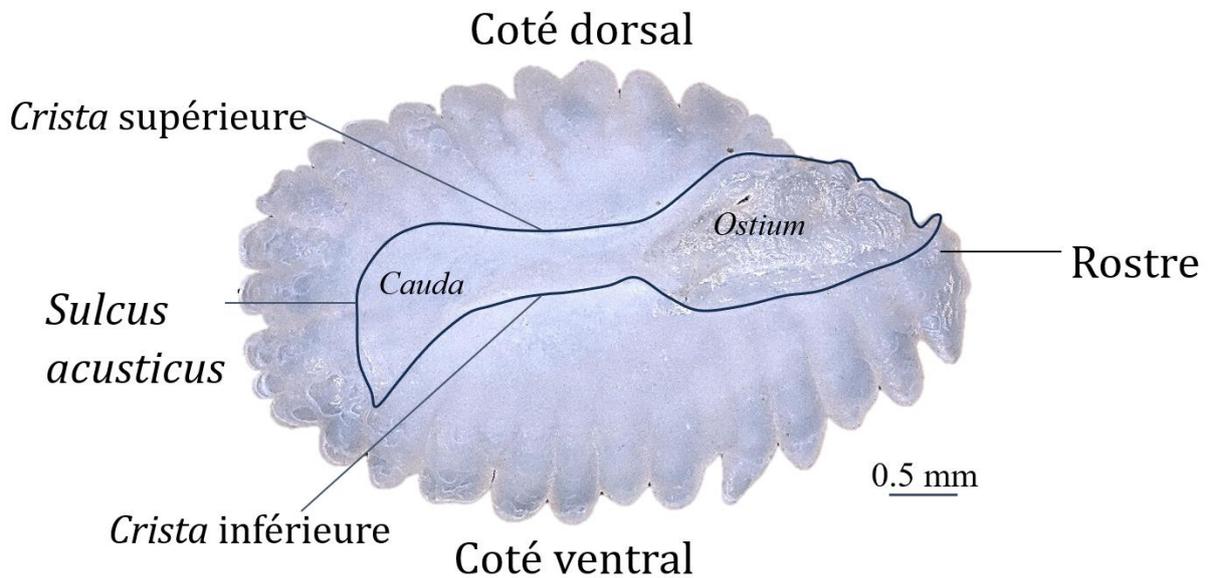


Figure 5. Face mésiale de la *sagitta* gauche d'*O. niloticus* annotée selon la nomenclature de Chainé et Duvergier (Nolf et al., 2009). Un antirostre est rarement présent sur les *sagittae* du tilapia du Nil.

La forme typique de la *sagitta* est celle d'une ellipse sur le plan *sagittal*. Elle est comprimée latéralement avec une face mésiale convexe et une face médiale concave. La croissance de la *sagitta* se fait principalement sur l'axe antéro-postérieur, d'où notamment sa forme elliptique (Wright et al., 2002). Les formes de la *sagitta* et du *sulcus* ont largement été décrites par Tuset *et al.* (2008). Par exemple, l'ouverture du *sulcus* (ostiale, caudale, mésiale, etc. ; fig.6 A), sa forme (archaesulcoïde, hétérosulcoïde, etc. ; fig. 6B) et sa position (médiane, infra-médiane ou supra-médiane), peuvent être classifiées en différents types. L'*ostium* et la *cauda* présentent également des caractéristiques permettant leur classification. Les régions antérieure et postérieure de la *sagitta* (oblique, irrégulière, arrondie...) ainsi que son contour (dentelé, irrégulier, sinueux, entier, lobé, etc. ; fig. 6C) ont été caractérisés par une série de formes. La définition de ces patterns de forme a permis de déterminer des espèces et de mettre en évidence des similitudes morphologiques de certains taxons. Par exemple, les Perciformes qui sont fortement diversifiés, ont néanmoins régulièrement une *sagitta* de forme oblongue ou elliptique, un contour denté ou crénelé avec un *sulcus* hétérosulcoïde. Chez les Gastérostéiformes, la

forme de la *sagitta* peut-être carrée, rectangulaire ou ovale, le *sulcus* étant également de forme hétérosulcoïde.

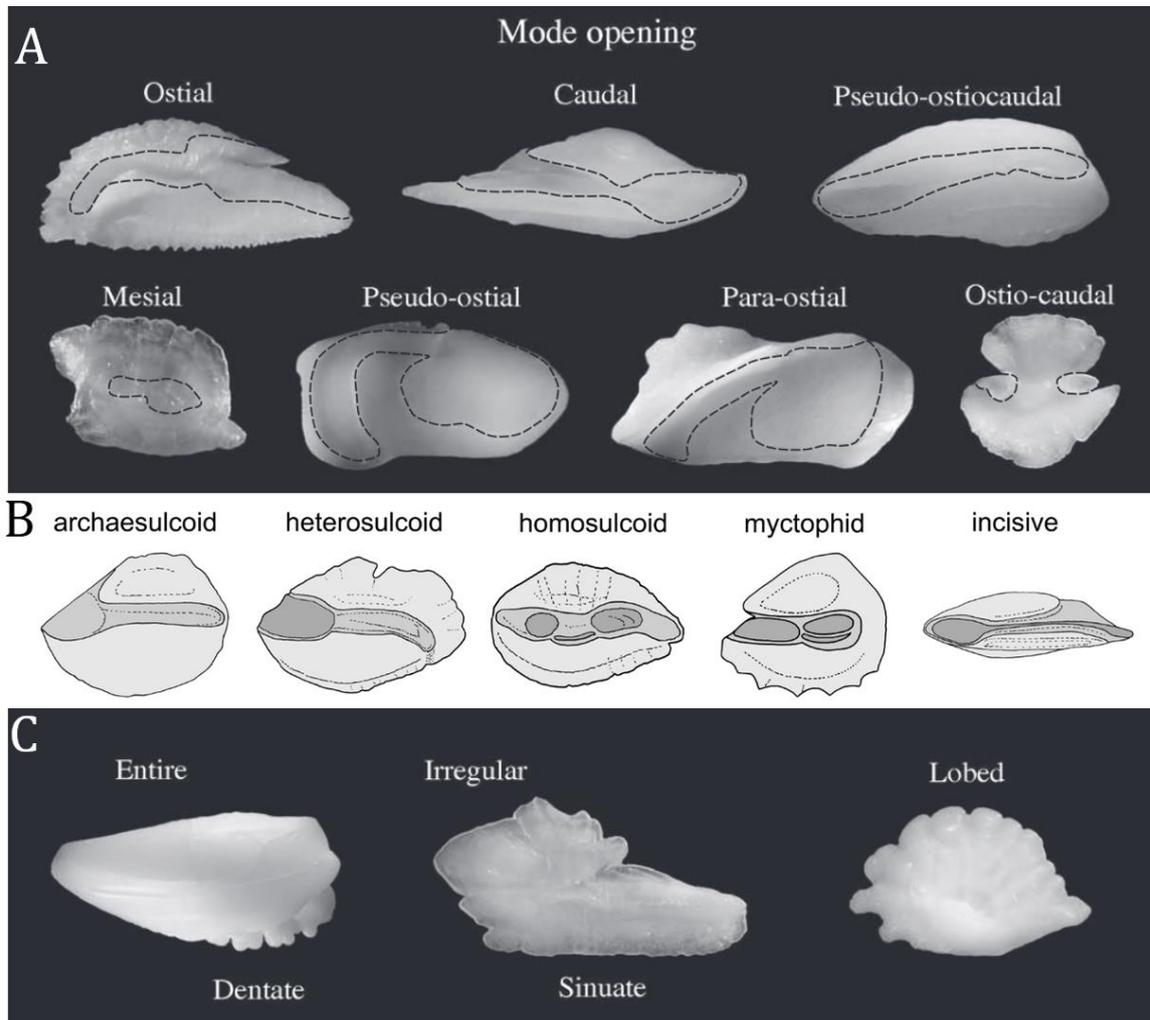


Figure 6. Illustration et termes (non exhaustifs) employé pour décrire la *sagitta* et le *sulcus acusticus*. A : modes d'ouverture du sulcus (Tuset et al., 2008); B : cinq principaux *patterns* de forme du *sulcus* selon Schwarzhans (2017) ; C : contour de la *sagitta* (Tuset et al., 2008).

1.4.2 Intérêt de l'étude de la *sagitta*

Le caractère inerte des otolithes fait de ces structures un outil de choix pour l'enregistrement de l'histoire de vie du poisson mais aussi de certaines caractéristiques environnementales dans lesquelles il a vécu (Schulz-Mirbach, 2019). Le dépôt graduel et journalier de carbonate de calcium en anneaux concentriques qui forment l'otolithe rend l'estimation de l'âge du poisson très précise par dénombrement de ces anneaux. Dans le domaine de la pêche et de l'aquaculture, l'estimation de l'âge constitue un paramètre crucial pour le suivi des populations de poissons en termes de productivité. Le parallèle entre l'âge, le taux de croissance et la mortalité des

poissons permet de retracer les caractéristiques de « l'histoire de vie » de populations (Campana & Thorrold, 2001). L'analyse isotopique de la *sagitta* permet la reconstitution de (paléo)environnements. Par exemple, par spectrométrie de masse de rapport isotopique, on a pu estimer certaines caractéristiques paléoclimatiques d'une partie de l'Holocène (Amekawa et al., 2016). Les otolithes sont aussi bioindicateurs de changements environnementaux par le dépôt continu de carbonate de calcium reflétant la disponibilité en ressources alimentaires, donc la croissance du poisson, et les fluctuations de température (Rossi-Wongtschowski et al., 2014). En outre, les otolithes ne sont pas ou difficilement dégradés dans l'estomac et l'analyse du contenu gastrique de cétacés ou d'oiseaux marins dans le suivi de certaines espèces ou lors d'autopsies peut fournir des informations sur les lieux de nourrissage et le type d'alimentation de l'animal (Schulz-Mirbach et al., 2019). Rappelons également que les différences morphologiques interspécifiques dues à des facteurs génétiques et environnementaux font des otolithes des outils taxonomiques précis en plus de l'étude des chaînes alimentaires (Wright et al., 2002). L'usage des otolithes s'étend également aux domaines de l'archéologie, la physiologie, l'écotoxicologie, la phylogénie, etc. (Schulz-Mirbach et al., 2019).

1.4.3 Ecomorphologie de la *sagitta*

La forme des otolithes serait le résultat d'une influence à la fois génétique et environnementale (Lombarte & Leonart, 1993, Vignon & Morat, 2010). D'autres études suggèrent que les paramètres environnementaux tels que la profondeur, la température, la disponibilité en nourriture et les propriétés physico-chimiques de l'eau influencent la morphologie des otolithes et expliqueraient la diversité de forme observée entre populations d'une même espèce (Bose et al., 2020). Par exemple, les espèces de poissons antarctiques pélagiques ont une petite *sagitta* allongée par rapport aux espèces benthiques pour lesquels la *sagitta* est grande et discoïde ; des *sagittae* ovales avec un rostre proéminent, des contours ornementés (festonnés) et la surface du sulcus représentant 10% de la surface totale de l'otolithe ont été associées aux « poissons nageurs » (Volpedo et al., 2008). Assis et al. (2020) ont corrélé la forme de la *sagitta* avec le régime alimentaire de poissons tropicaux : les espèces piscivores et omnivores présentent un rostre plus développé et un otolithe allongé, tandis que les individus carnivores se nourrissant d'invertébrés mobiles ont tendance à avoir une forme de *sagitta* arrondie. En ce qui concerne les variations intraspécifiques de la *sagitta*, Vignon et Morat (2010) ont montré que la *sagitta* de *Lutjanus kasmira* issus de différentes populations diffère (principalement) au niveau du rostre et de l'anti-rostre d'une population à l'autre.

Le lien entre la fonction auditive et, plus généralement la communication acoustique, et la taille de la *sagitta* a amplement été étudié. L'hypothèse selon laquelle une plus grande taille d'otolithe améliore les capacités auditives et la communication acoustique pour de nombreuses espèces de poissons est soutenue par plusieurs études (Cruz & Lombarte, 2004 ; Gaudie, 1988 ; Paxton, 2000). Cruz & Lombarte (2004) ont par exemple montré que les « spécialistes de l'audition » tels que les Scianidae ou les Hemulidae, développent des *sagittae* de grande taille, tandis que les Labridae, dont la communication est plutôt visuelle qu'auditive, ont des *sagittae* de petite taille. Cependant, d'après l'étude de Kéver et al. (2014) sur deux Ophidiiformes, il n'est pas possible de prédire la taille de la *sagitta* en considérant uniquement les capacités auditives des poissons. De plus, Schulz-Mirbach et al. (2010) ont montré des différences de taille de *sagitta* de *Poecilia mexicana* entre des populations de surface et une population de cavernes sous-marines, sans aucune différence dans les capacités auditives.

L'écomorphologie de la *sagitta* a été étudiée en comparant des observations sur des poissons provenant de milieux naturels pour lesquels la contribution de facteurs environnementaux et génétiques à la variation morphologique de la *sagitta* sont difficilement isolés.

1.5 Quantification de la forme de la *sagitta* et géométrie morphométrique

La morphométrie est la mesure (*-metron*) de la forme (*morpho-*), une discipline liée à la statistique (Mitteroecker & Gunz, 2009).

La plupart des études morphométriques de la *sagitta* se sont focalisées sur des mesures dépendantes de la taille et sur des analyses de forme du contour indépendantes de la taille. Les mesures de la longueur antéro-postérieure, du diamètre maximum de Férét, la largeur dorso-ventrale, la distance de points du contour au centre de gravité, l'aire de la projection *sagitta* le en 2 dimensions (2D) et le périmètre sont les plus fréquemment utilisées (Ponton, 2006). Beaucoup d'études combinent ces mesures pour obtenir des indices de forme indépendant de la taille tels que la rondeur, la circularité, la rectangularité, l'ellipticité et l'excentricité (Tuset et al., 2003). L'un des paramètres les plus visuellement observables en morphologie est le contour des formes biologiques (Lestrel, 1997). La méthode de Fourier, dont le principe est de décomposer le contour d'une forme 2D irrégulière en un set de composants simples (les harmoniques) a été largement utilisée pour l'analyse de contour de la *sagitta* en 2D (Ponton, 2006). Parmi les méthodes de décomposition de Fourier, la méthode de fonction elliptique

(Lestrel, 1997) permet l'utilisation brute des coordonnées de points de contour de l'objet (Kuhl & Giardina, 1982). Cependant, sa capacité à localiser et à discriminer les singularités de formes est discutée. L'analyse par transformation en ondelettes (*wavelet*) permettant de décomposer un signal en composantes d'ondes de différentes échelles et fréquences semble pallier ce problème. L'un des avantages de l'analyse par transformation en ondelettes est qu'il permet de travailler avec un nombre réduit de dimensions pour décrire fidèlement le contour d'otolithes sur base d'images par exemple (Parisi-Baradad et al., 2005).

Plus récemment, les études morphologiques utilisent en grande majorité la géométrie morphométrique, c'est-à-dire l'analyse de coordonnées cartésiennes de points repère (*landmarks*) biologiquement définissables (Ponton, 2006 ; Mitteroecker & Gunz, 2009). Ce type d'analyse repose sur l'utilisation d'homologies biologiques de structures désignées par des points identifiables d'un individu à l'autre (Bookstein, 1992). Additionnellement, des *semilandmarks* peuvent être définis pour décrire l'homologie de courbes ou surfaces complexes en 2D ou 3D (Gunz & Mitteroecker, 2013 ; Mitteroecker & Gunz, 2009 ; Zelditch et al., 2012a ; Zelditch et al., 2012b). Le placement de *semilandmarks* est réalisé manuellement et l'algorithme permet ensuite le "glissement" de ces points le long des tangentes des courbes ou surfaces, de façon à minimiser les différences de forme entre les configurations de points et la forme moyenne des structures échantillonnées tout en rejetant l'espacement arbitraire (Mitteroecker & Gunz, 2009). La superposition de Procruste - superposition des *landmarks* des spécimens d'un échantillon en supprimant tout paramètre ne se référant pas à la forme (Rohlf & Slice, 1990) - est la méthode la plus répandue pour aligner les coordonnées (Mitteroecker & Gunz, 2009). Cet alignement permet d'isoler la variation morphologiques dues à la taille, et donc la croissance des structures, des variables de forme (Ponton, 2006).

La morphométrie géométrique n'utilise que peu de points en comparaison avec d'autres techniques (analyse du contour) mais elle s'avère être performante pour l'identification d'espèces de téléostéens sur base de la *sagitta* et caractériser sa diversité morphologique (Tuset et al., 2016). De plus, les grilles de déformations obtenues par la géométrie morphométrique offrent une visualisation aisée des différences de formes entre spécimens (Tuset et al., 2016). Lorsque l'on combine la quantification du contour de la *sagitta* à celle du *sulcus*, la capacité de distinguer la variabilité interspécifique au sein d'un ensemble de poissons est améliorée (Tuset et al., 2016). Si la géométrie morphométrique appliquée à la *sagitta* est désormais optimisée, l'identification d'espèces est par les *wavelet* reste une des plus efficaces (Tuset et al., 2021).

La morphologie connaît depuis ces dernières années un tournant important grâce à l'acquisition de données en trois dimensions (3D) par des outils d'imagerie à haute résolution, tels que l'imagerie par micro-tomographie (Goswami et al., 2019). Dans ce contexte, le développement des techniques de géométrie morphométrique 3D permettant le placement d'un grand nombre de points à la surface de l'objet est essentiel. Boyer *et al* (2015) ont notamment mis au point un algorithme permettant le placement automatique de points, nommés *pseudolandmarks*, sur des modèles 3D de structures telles que des os, ces points pouvant être analysés avec les méthodes classiques utilisées en morphométrie géométrique. En raison de l'absence de correspondance anatomique claire et du grand nombre de points utilisés dans ce type d'analyses, ces dernières sont qualifiées de géométrie morphométrique « sans homologie » ou « à haute densité » (Cardini, 2020). Afin d'analyser la morphologie de structures présentant une grande disparité, Fischer *et al* (2022) a développé une approche pour combiner les avantages des *landmarks*, *semilandmarks* et *pseudolandmarks*.

1.6 Objectifs

De nombreuses études morphologiques attestent de la diversité de la *sagitta* à différentes échelles taxonomiques (interspécifique, intraspécifique et populationnel). Si les otolithes permettent de fournir différents types d'informations sur le poisson et son milieu de vie, les facteurs déterminant la variation de leur forme restent peu compris et quantifiés. Actuellement, les études éco-morphologiques ont permis de mettre en évidence que l'environnement pouvait avoir un impact sur la morphologie des otolithes mais elles n'ont pas permis d'en déterminer la fonction ni d'en discerner la causalité propre. Le lien entre la forme de la *sagitta* et la façon dont un poisson manœuvre dans son environnement n'a jamais été testée empiriquement. Compte tenu de l'implication des otolithes dans la fonction vestibulaire de l'oreille interne, nous émettons l'hypothèse qu'un environnement plus ou moins complexe puisse induire des variations morphologiques de la *sagitta* (Schulz-Mirbach et al., 2014, Schulz-Mirbach et al., 2011). L'objectif de ce mémoire est de quantifier l'impact d'un environnement plus ou moins complexe sur la morphologie de la *sagitta*. Il se déroulera en trois grandes étapes : (1) élever des tilapias du Nil issus de la même fratrie depuis le stade juvénile pendant 5 mois dans 4 conditions expérimentales de complexité environnementale croissante, (2) vérifier, par des tests auditifs, que, l'environnement n'impacte pas la fonction auditive de l'oreille interne, (3) quantifier la morphologie de la *sagitta* de façon bi- et tri- dimensionnelle par morphométrie classique et géométrie morphométrique.

2. Matériel et méthode

2.1 Élevage et conditions expérimentales

La souche « rouge » de l'espèce *Oreochromis niloticus* utilisée pour les expérimentations provenait de l'aquaculture suédoise Gf-Hatchery® et Gardsfisk®. 400 mâles âgés d'un mois issus de la même fratrie ont été équitablement répartis dans quatre aquariums de 250 L (dimensions 50*50*100 cm) différant en complexité environnementale. La température de l'eau a été maintenue à 26°C (+/- 1°C), à un pH de 8 et sous une photopériode de 12h durant les 5 mois d'élevage. Les aquariums d'élevage faisaient partie d'un système d'eau recirculée et étaient en communication les uns avec les autres, assurant des conditions physicochimiques identiques au sein de chaque aquarium expérimental. Chaque aquarium était équipé d'un bulleur à air. Les poissons ont été nourris équitablement *ad libitum*.

La complexité environnementale est représentée par la disposition dans l'aquarium d'obstacles qui obligent le poisson à manœuvrer, et donc à développer ses capacités vestibulaires. Elle a été matérialisée par différentes densités de chaîne en plastique lestées et suspendues à une grille placée au-dessus de chaque aquarium d'élevage (fig. 7). La densité en chaînes dans chaque aquarium était de 0, 40, 80, 120 chaînes/m² (soit 0, 20, 40 et 60 chaînes/aquarium), définissant respectivement les conditions expérimentales 0 (C0 : pas de complexité environnementale), 1 (C1), 2 (C2) et 3 (C3 : niveau de complexité le plus élevé).

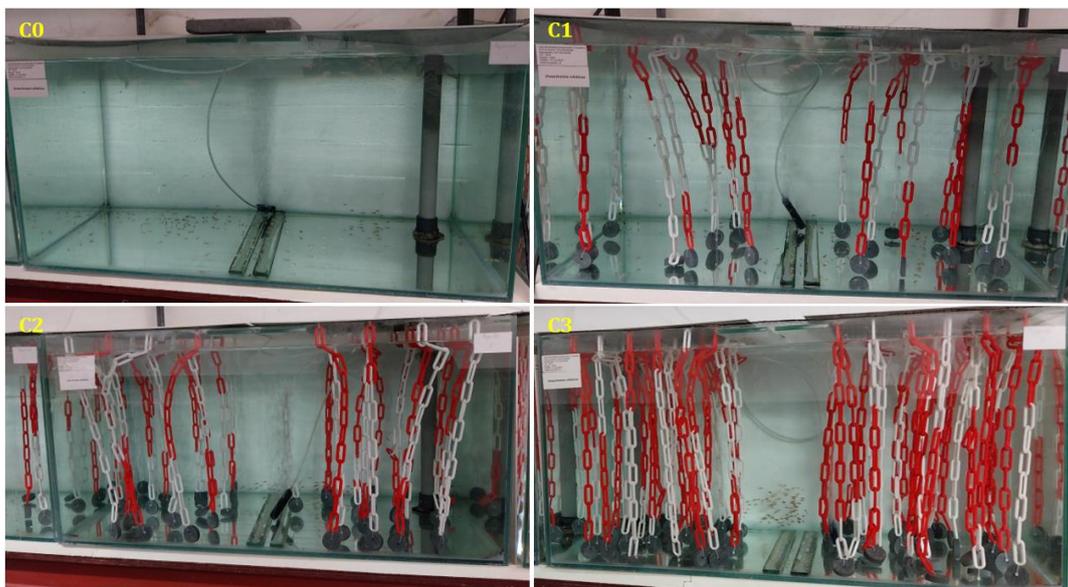


Figure 7. Conditions d'élevage d'*O. niloticus* illustrant la complexité environnementale croissante (C0 → C3) représentée par la densité de chaînes.

Après cinq mois d'élevage, 40 poissons par condition expérimentale ont été euthanasiés. Après mesure de la Longueur Standard (LS) et de la Longueur de la Tête (LT) (fig. 8), les poissons ont été fixés pendant 24h dans une solution de formol (7 %), avant d'être conservés dans de l'éthanol (70 %).

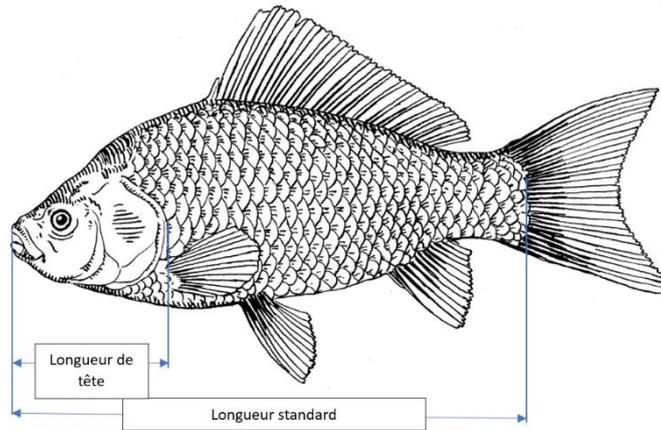


Figure 8. Schéma montrant les mesures de LS (mesurée de l'avant de la bouche à la base de la nageoire caudale) et de LT (mesurée de l'avant de la bouche à l'extrémité caudale de l'opercule).

La suite des manipulations et les résultats ont été effectués uniquement pour les individus provenant des conditions expérimentales extrêmes (C0 et C3), que l'on désignera par « condition contrôle » et « condition complexe » dans la suite de ce manuscrit.

2.2 Dissections

Les dissections ont été réalisées sous loupe binoculaire (Leica, Wild M10). La méthode de dissection, telle qu'employée par Panfili (2002), consistait en une section parallèle à l'axe frontal du poisson commençant à l'arrière des yeux et se terminant à l'extrémité caudale de l'opercule. Le cerveau a ensuite été retiré ce qui a permis d'atteindre la cavité otique et de récupérer les *sagittae* à l'aide de forceps. Chaque otolithe a finalement été lavé à l'éthanol, rincé à l'eau et séché à l'air.

2.3 Test des capacités auditives des poissons expérimentaux

2.3.1 *Auditory Evoked Potential*

Au terme de l'élevage, 20 individus (10 par condition) de taille similaire ont été soumis à des tests auditifs par la technique de l'*Auditory Evoked Potential* (AEP). La technique d'AEP utilisée repose sur celle développée par Kenyon et al. (1998), et permet de mesurer les capacités auditives de poissons. Le dispositif expérimental et la méthode (fig. 9) ont été adaptés de ceux décrits par Parmentier et al. (2009). Le dispositif enregistre des réponses nerveuses auditives sous forme de signaux électriques suite à l'exposition du poisson à des stimuli sonores de fréquences et intensités connues. La transition d'une présence à l'absence de réponse aux différents signaux sonores émis est définie comme le seuil de détection d'un son d'une fréquence donnée. Cette valeur seuil, après calibration, est l'intensité (en décibels) minimale à laquelle le poisson peut entendre une fréquence donnée.

Chaque poisson était immobilisé grâce à un harnais fabriqué au laboratoire permettant sa respiration normale, et suspendu dans l'aquarium d'enregistrement. Trois électrodes en acier inoxydable à placement intradermique ont été utilisées pour enregistrer le signal électrique : l'électrode d'enregistrement, placée au niveau du neurocrâne sur la ligne médiane passant entre les yeux à proximité de la région otique ; l'électrode de référence, placée au niveau de la musculature épaxiale proximale ; l'électrode de terre, placée au niveau de la musculature épaxiale distale. Chaque spécimen était placé 10 cm en dessous de la surface de l'eau dans un aquarium de 80 L (dimensions 77*31,5*32,5 cm), rempli d'eau à 25°C et équipé d'un bulleur à air. Un haut-parleur submersible était posé au fond de l'aquarium 20 cm en dessous de l'individu. Le dispositif était placé dans une chambre anéchoïque et les tests ont été réalisés dans l'obscurité.

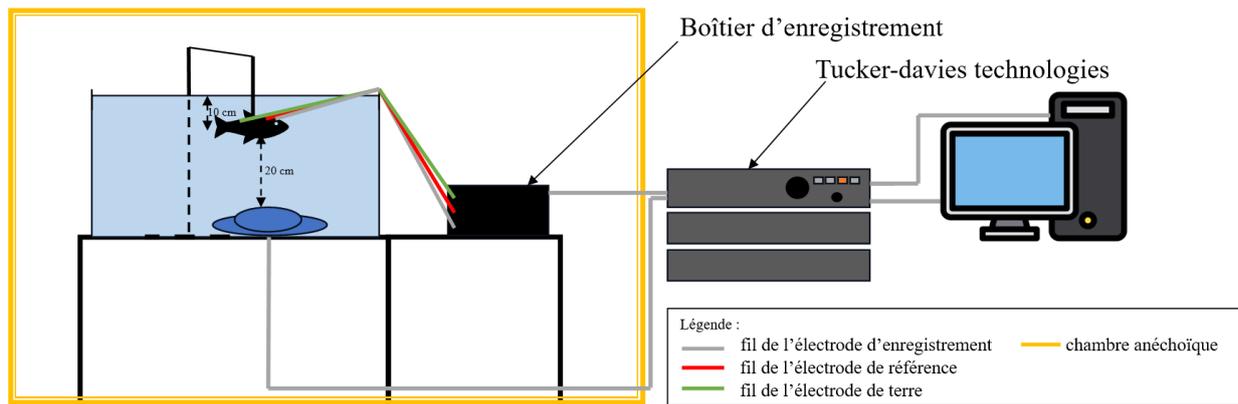


Figure 9. Schéma du montage expérimental de l'AEP, montrant le placement des différents éléments du dispositif, notamment la position des électrodes (cf. légende du schéma) qui relie le poisson au boîtier d'enregistrement. L'individu est placé 20cm au-dessus du haut-parleur (en bleu au fond de l'aquarium) et ce dernier, ainsi que le boîtier d'enregistrement sont reliés au dispositif de génération des stimuli et de récupération des signaux nerveux Tucker-Davies Technologies (TDT) situé en dehors de la chambre anéchoïque.

Le dispositif d'AEP Tucker-Davies technologies© (TDT, Alachua, FL, USA) a été utilisé pour créer les stimuli sonores, les émettre et récupérer les signaux électriques sous forme de graphiques linéaires. Les logiciels TDT SigGen et BioSig ont été utilisés pour générer des stimuli sonores à l'aide d'un processeur RP2.1, un atténuateur programmable PA5 pour contrôler l'intensité sonore et un amplificateur de puissance (amplificateur de puissance professionnel Hafler Trans.Ana P1000 110W, Tempe, AZ, USA). Les stimuli, consistant en des tonalités pulsées de 50 ms émises 500 fois, ont été émis à partir d'un haut-parleur submersible UW-30 (Lubell Labs, Columbus, OH, USA).

Avant de tester les poissons issus des bacs expérimentaux, un audiogramme a été dressé à partir de 5 individus *Oreochromis niloticus* (LS comprise entre 8,3 et 9,4 cm) de manière à déterminer les fréquences auxquelles les poissons sont les plus sensibles. Pour valider la fiabilité du dispositif, un *Synodontis* (LS = 16.3 cm ; Mochokidae, Siluriformes) possédant une connexion otophysique (appareil de Weber) lui conférant une sensibilité acoustique élevée (Lechner et al., 2010 ; Schulz-Mirbach et al., 2012), a été soumis à un AEP aux mêmes fréquences que celles présentées pour établir l'audiogramme d'*Oreochromis niloticus* (section « 3. Résultats » fig. 13). Ce travail préliminaire a permis de mettre en évidence les fréquences auxquelles le tilapia du Nil était le plus sensible. Les fréquences de 300, 400, 500, 600 Hz ont été sélectionnées pour comparer les capacités auditives des poissons entre les conditions tout en limitant le temps passé par l'animal dans le dispositif expérimental. Pour chacune des fréquences testées, des atténuations du niveau sonore allant jusqu'à 60 dB ont été appliquées par palier de 6.

Une calibration des stimuli acoustiques consistant au placement d'un hydrophone (modèle Reson, Goleta, CA, USA ; sensibilité : $-163,9$ dB re $1\text{V}\mu\text{Pa}^{-1}$; bande passante : 1 Hz –170 kHz) connecté au RP2.1 à la place du poisson, dans le dispositif expérimental, a été effectuée chaque jour de test. Cette partie sert à déterminer le niveau dB réellement perçu par le poisson lors de l'émission des stimuli. Les niveaux sonores des valeurs d'atténuation obtenues pendant la phase de test ont été mesurés avec BioSig. Une valeur en Volt est obtenue pour chaque fréquence lors de la calibration et cette valeur est convertie en décibels selon la formule suivante :

$$163.9 + 20 * \log(\text{valeur en Volt}) = \text{valeur en Décibels}.$$

2.3.2 Bruit ambiant dans les aquariums expérimentaux

Le bruit ambiant dans l'habitat de téléostéens a une influence sur leurs capacités auditives et peut occasionner des adaptations transitoires (ou des dégâts irréversibles) au bruit chez certaines espèces (Smith et al., 2004 ; Amoser & Ladich, 2005 ; Ladich, 2014). Vu ces effets potentiels, le bruit ambiant a été mesuré dans les conditions d'élevages. Un enregistreur sonore calibré (TASCAM® DR-05X ; TEAC, Wiesbaden, Germany ; 44.1 kHz sampling rate) était relié à un hydrophone (cf. description ci-dessus) placé au milieu de l'aquarium, $\pm 15\text{cm}$ en dessous de la surface de l'eau, pour une durée d'enregistrement de 10s. La bande son a ensuite été ouverte dans le logiciel AVISOFT© (version 5.3.2-25) et le logiciel a été calibré. Un spectre de puissance a été obtenu après application d'une transformation de Fourier sur la bande son, ce qui a permis l'obtention des valeurs de décibels aux fréquences 150, 200, 300, 400, 500, 600, 800, 900, 1200 et 1500 Hz (fréquences de l'audiogramme complet d'*O. niloticus*).

2.4 Mesures linéaires 2D et indices de forme

Des mesures ont été faites sur base de photographies d'otolithes gauches en vue mésiale réalisées par microscopie numérique avec le microscope optique à haute résolution Keyence (VHX-7000). Les mesures ont été directement faites avec le logiciel du VHX-7000. Les périmètres et surfaces totales de chaque otolithe, ainsi que les diamètres de Féret horizontal (longueur) et vertical (largeur) ont été réalisés par détection automatique. Le diamètre de Féret est calculé en plaçant un rectangle autour de l'objet de manière à minimiser la distance entre les côtés du rectangle et les bords de l'objet : les mesures de longueur et de largeur du rectangle sont les diamètres de Féret horizontal et vertical respectivement (He et al., 2018). Le périmètre et la surface du *sulcus acusticus* ont été réalisés manuellement. Les mesures de profondeur et

largeur de *sulcus* ont été réalisées au niveau de trois segments transversaux passant par des *landmarks* définis pour la quantification 3D (fig. 10). Chaque mesure « manuelle » a été répétée trois fois et une moyenne a été réalisée.

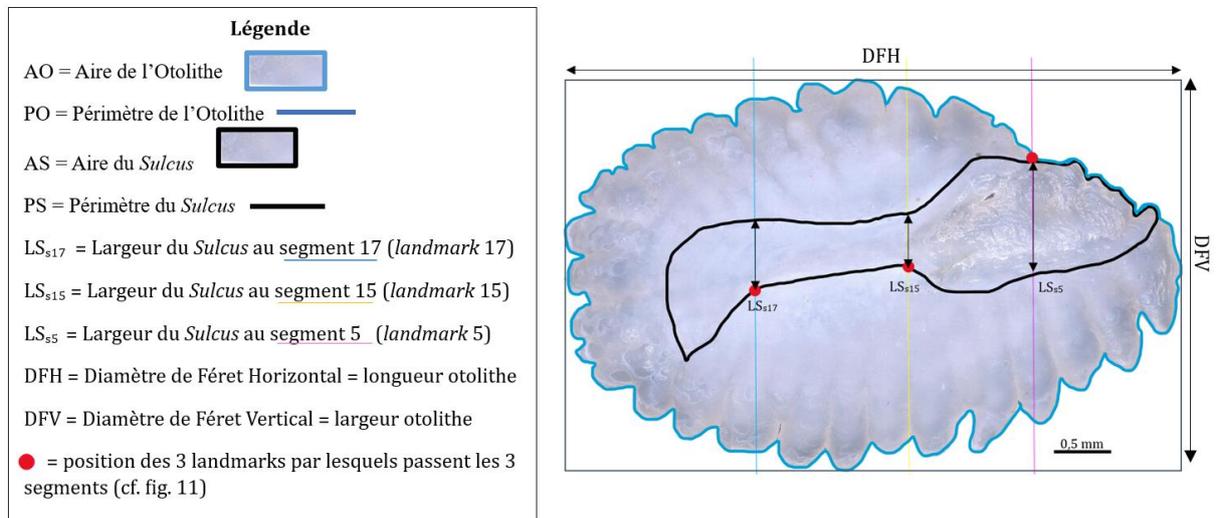


Figure 10. Vue mésiale d'une *sagitta* gauche montrant l'ensemble des mesures effectuées en 2D : AO, PO, AS, PS, LS_{s17}, LS_{s15}, LS_{s5}, DFH et DFV. DFH et DFV sont la longueur et largeur maximums de la *sagitta* (He et al., 2018). Les LS désignent les mesures de largeur du *sulcus* aux trois segments ; la Profondeur du *Sulcus* (PrS) a également été mesurée au niveau de ces trois segments. Les segments passent par 3 *landmarks* décrits à la figure 10.

Les indices de formes sont amplement utilisés pour caractériser la forme de la *sagitta* (Ponton, 2006 ; Tuset et al., 2003 ; Zorica et al., 2010 ; Bani et al., 2013). Six indices de formes ont été calculés dans le cadre de cette étude (tab. 1 ; Lombarte, 1992 ; Cañas et al., 2012 ; Ponton, 2006 ; Schulz-Mirbach et al., 2011).

Tableau 1. Indices de formes calculés et leur abréviation.

Paramètre mesuré	Formule	Abréviation	Information morphologique
Surface sensorielle	$\frac{\text{Aire du Sulcus}}{\text{Aire de l'Otolithe}}$	AS/AO	Surface sensorielle relative
Circularité	$\frac{\text{Périmètre de l'Otolithe}}{\text{Aire de l'Otolithe}}$	PO ² /AO	Forme de la <i>sagitta</i> par rapport à un cercle parfait
Rapport d'Aspect	$\frac{\text{Diamètre de Féret horizontal}}{\text{Diamètre de Féret vertical}}$	RA	Tendance circulaire ou allongée
Encaissement du <i>sulcus</i>	$\frac{\text{Largeur du sulcus}}{\text{Profondeur du sulcus}}$	LS/PrS _{s15} LS/PrS _{s17} LS/PrS _{s5}	Forme d'une section du <i>sulcus</i>

2.5 Géométrie morphométrique 3D

2.5.1 Acquisition des scans et modélisation

Chaque côté gauche d'une paire de *sagitta* a été scanné par micro-tomographie à rayons X à l'aide d'un scanner Skyscan1172 dont la caméra était une SHT 11mp. Les 78¹ *sagittae* ont été fixées sur leur face médiale (*sulcus* vers le haut, quatre *sagittae* par support), avant d'être placées dans le scanner. La résolution de la caméra était de 8,99 μm et la source de voltage à rayons X était de 100 kV pour une source de courant de 100 μA . Le spectre des rayons X a été filtré par un filtre en aluminium d'épaisseur 0,5 mm. Des images de projection couvrant une rotation de 180° ou 360° de l'échantillon ont été acquises par pas angulaires de 0,6°. Les *sagittae* ont ensuite été modélisées en 3D sur le logiciel AMIRA (version 2021.2) : les images du scan sont combinées en volume 3D et la segmentation s'est faite par détection semi-automatique de seuil. Après cette étape semi-automatique, chaque segmentation d'otolithe a été vérifiée image par image et corrigée si nécessaire à l'aide de l'outil « pinceau » pour affiner la modélisation.

Après chaque modélisation, le Volume des Otolithes (VO) a été récupéré depuis une mesure automatique de l'otolithe modélisée.

2.5.2 Géométrie morphométrique

a) Méthode classique

25 *landmarks* dont 7 *semilandmarks* ont été placés via le logiciel 3DSlicer (version 5.2.2) en adaptant la méthode décrite par Tuset et al. (2016) (fig. 11). Le contour des *sagittae* a été décrit par 8 *landmarks* de type II (points homologues d'après Bookstein, 1992) et 4 *semilandmarks* ; 10 *landmarks* de type II et 3 *semilandmarks* ont permis de décrire le contour du *sulcus acusticus* (Bookstein, 1992). Deux points supplémentaires (exclus des analyses de forme) ont été placés au milieu des face mésiale et médiale, afin de mesurer l'épaisseur de chaque *sagitta*.

¹ 2 *sagittae* gauches altérées durant la préparation au scanner n'ont pas été analysées.

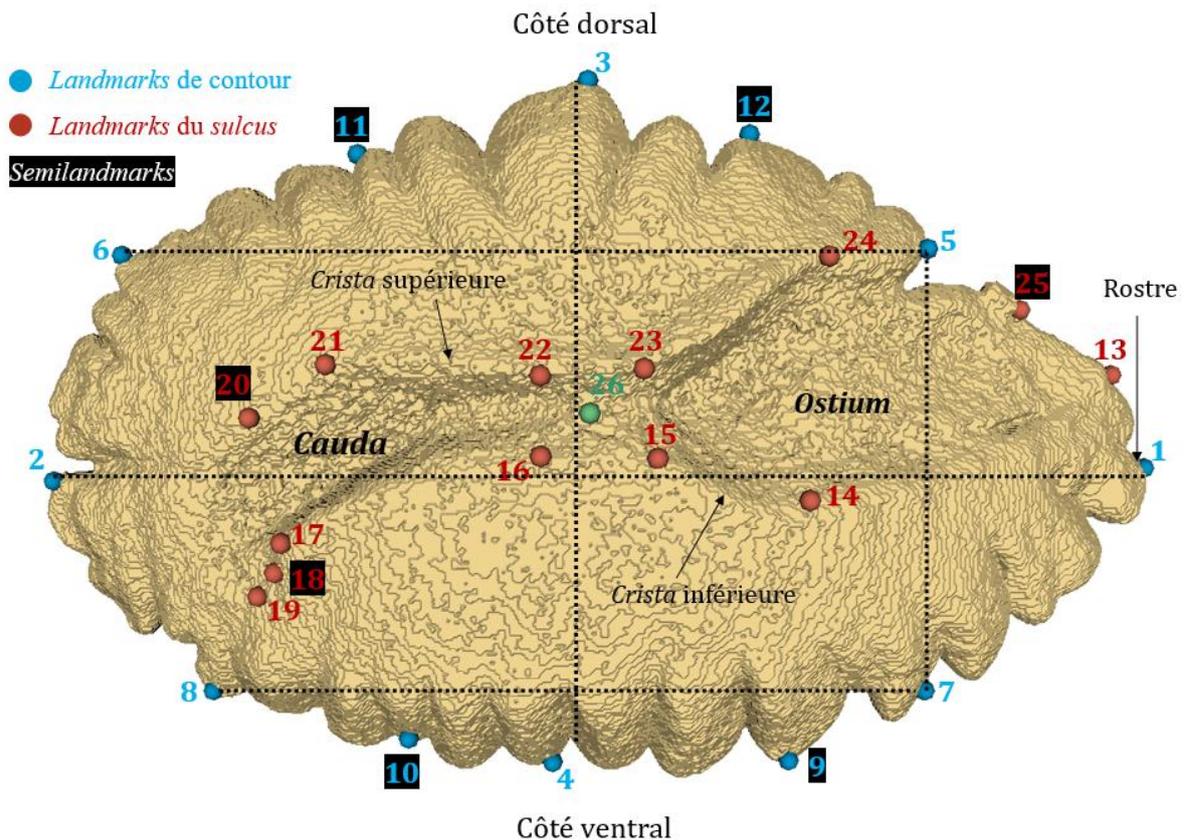


Figure 11. Modèle de *sagitta* gauche importée dans 3DSlicer montrant les 25 landmarks ; la position du point 26 (le 27 se situe en face sur la face médiale) est celle où l'épaisseur des *sagittae* a été mesurée. Les landmarks 1 à 12 décrivent le contour de la *sagitta* et les landmarks 13 à 25 le contour du *sulcus acusticus*. **Contour de la *sagitta*.** 1 : point proéminent du rostre, 2 : projection postérieure de 1 ; 3 : point dorsal le plus élevé, 4 : projection ventrale de 3 (décalé de la ligne de projection pour éviter que 4 ne soit situé dans un creux) ; 5 : intersection de l'ouverture ostiale et de la *crista* supérieure, 6 : projection postérieure de 5, 7 : projection ventrale de 5, et 8 : projection postérieure de 7. 9, 10, 11 et 12 : *semilandmarks*. **Contour du *sulcus*.** 13 : intersection de l'ouverture ostiale et de la *crista* inférieure ; 14 et 24 : changements de courbure de la *crista* au niveau ostial ; 15, 16, 22 et 23 : position, taille et symétrie de la constriction entre l'*ostium* et la *cauda* ; 17 et 21 : changements de courbure de la *crista* au niveau *caudal* ; 19 : point le plus distal de la *cauda* ; 18, 20 et 25 : *semilandmarks* (Tuset et al., 2015).

b) Patching de haute densité de semilandmarks de surface

Cette partie des analyses repose sur l'utilisation d'un modèle sur lequel de nombreux points de surface sont échantillonnés automatiquement (*pseudolandmarks*), ces points étant ensuite seulement projetés (*semilandmarks*) sur chacun des spécimens, d'après le protocole de Fischer et al. (2022) (fig. 12). Le modèle (« *template* ») consiste soit en un objet 3D de forme simple représentant la structure étudiée (un ellipsoïde par exemple), soit un des individus de forme moyenne du jeu de données ou un individu non présent dans le jeu de données (Bardua

et al., 2019). D'après Souter et al. (2010), dans les jeux de données pour lesquels les variations morphologiques sont relativement faibles entre individus, l'utilisation d'un *template* plus complexe qu'une forme géométrique simplifiée est appropriée. Nous avons donc choisi l'individu dont la forme est la plus proche de celle de la forme moyenne de l'échantillon, déterminé par la fonction « findMeanSpec » du *package geomorph*. La fonction « createAtlas » du *package Morpho* a permis d'enregistrer ce *template* avec ses 25 *landmarks* et *semilandmarks* ainsi que 500 *pseudolandmarks* échantillonnés automatiquement et aléatoirement à la surface du *template*, nommé « Atlas ». A partir de cet atlas, les *pseudolandmarks* sont projetés comme *semilandmarks* de surface sur chaque modèle 3D des 78 *sagittae* par la fonction « placePatch » du *package Morpho*. Toutes cette partie a été effectuée avec le logiciel R (version 4.3.0).

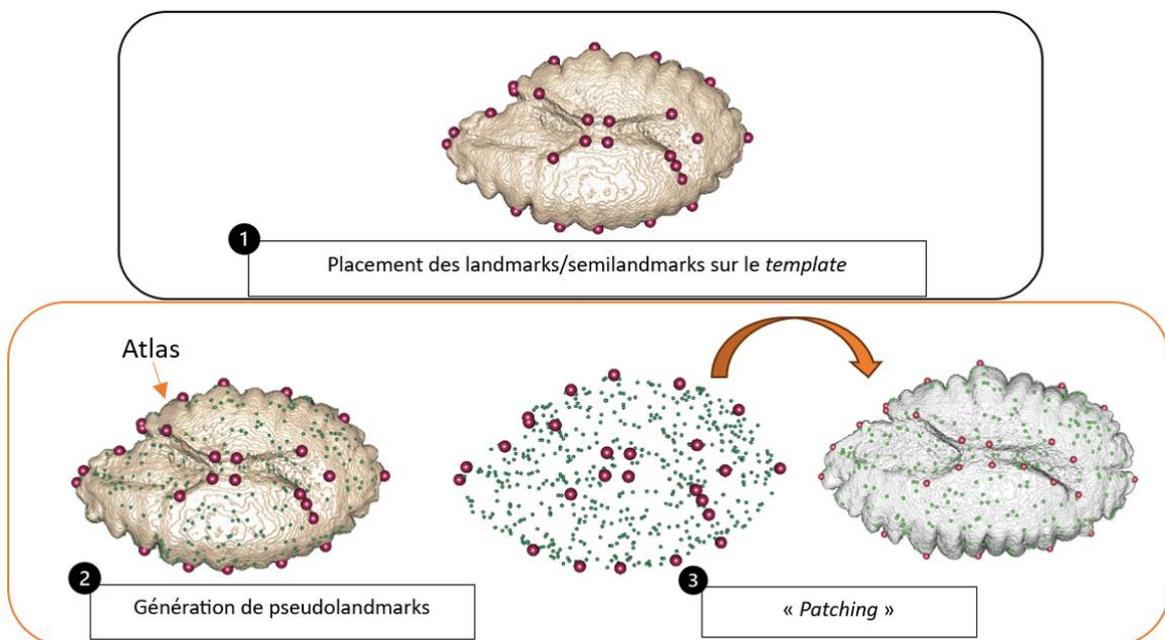


Figure 12. Séquences d'opérations consécutives pour appliquer la géométrie morphométrique à haute densité de *semilandmarks* aux otolithes. (1) 25 *landmarks* et *semilandmarks* (points en rose foncé) sont placés manuellement (méthode « classique »); (2) Échantillonnage automatique de *pseudolandmarks* sur la surface du *template* et création de l'atlas; (3) *patching* : projection de *pseudolandmarks* du *template* sur les modèles 3D des 78 *sagittae* permettant d'obtenir les coordonnées des *semilandmarks* de façon automatique. Schéma inspiré de Fischer et al. (2022).

2.6 Traitement des données et analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R (version 4.3.0) et traitées dans l'interface Rstudio.

2.6.1 *Auditory Evoked Potential*

Pour chacune des fréquences testées, la corrélation entre la LS et les capacités auditives mesurées a été testées avec un test de corrélation de Pearson.

La normalité des mesures et l'homogénéité des variances entre les conditions C0 et C3 étant respectées, des tests de Student ont été effectués pour comparer les moyennes de chaque valeur seuil d'AEP en fonction de la condition pour chaque fréquence donnée.

2.6.2 Analyses des mesures linéaires

La morphométrie des otolithes est souvent fortement liée à la taille des poissons (Lombarte & Lleonart, 1993 ; Bwanika et al., 2007), la LT donc a été intégrées aux analyses des mesures linéaires. La LT a été favorisée dans les modèles parce que la tête représente mieux le système sensoriel et son intégration fonctionnelle ; cette affirmation est soutenue par des modèles expliquant davantage de variance (R^2 supérieur) en utilisant LT (plutôt que LS) comme variable de taille. La normalité des valeurs de LT n'étant pas respectée, un test de Wilcoxon a été utilisé pour déterminer s'il existait une différence de moyenne de LT entre les conditions expérimentales.

Afin de vérifier l'effet des variables indépendantes (1) LT et (2) complexité de l'environnement dans lequel a été élevé l'individu, des régressions ont été effectuées pour chaque mesure linéaire, le volume et pour chaque indice à l'aide de la fonction « lm » (package « stats »). Les modèles linéaires ont été construits selon l'équation $Y \sim X_1 + X_2$, : Y (variable dépendante) représentait une mesure/indice ; X_1 et X_2 (variables explicatives) représentaient les variables (1) et (2) mentionnées ci-dessus. En plus de ces modèles incluant deux variables explicatives, des modèles linéaires n'incluant que la variable explicative LT ont été réalisés ($Y \sim X_1$; $X_1 = LT$) pour récupérer la variabilité résiduelle (soustraction de l'effet de la taille). Les résidus de la LT ont été utilisés pour calculer les tailles d'effet des mesures linéaires significativement affectées par la condition expérimentale et utilisés pour effectuer des graphiques de densité d'autre part.

La taille d'effet est fréquemment considérée comme le résultat principal d'un test statistique, puisqu'elle est indépendante de la taille de l'échantillon, contrairement à la p-valeur (Sullivan & Feinn, 2012 ; Lee, 2016). La fonction « lm » ne fournit pas cette valeur bien qu'elle fournisse une t-valeur qui y est associée. La taille d'effet de la condition expérimentale pour les différentes mesures linéaires a été calculée par le coefficient d de Cohen (Cohen, 1962) selon la formule :

$$d = \frac{Ma - Mb}{\sigma},$$

où Ma et Mb sont les moyennes de la variable étudiée pour la condition C0 et C3, respectivement, et σ est l'écart-type pour l'ensemble des valeurs de la mesure, toutes conditions confondues (les moyennes et écart-type ont été divisés par la taille des poissons pour supprimer ce facteur de variation des calculs). Le coefficient d peut être petit ($d \approx 0,2$), moyen ($d \approx 0,5$) ou grand ($d \approx 0,8$) (Sullivan & Feinn, 2012). La valeur du coefficient donne donc une idée directe de l'ampleur de la taille d'effet.

2.6.3 Analyses des données 3D

Toutes les analyses 3D se sont faites avec le *package geomorph* (Adams et al., 2023 ; Baken et al., 2021 ;). Les mêmes analyses ont été effectuées pour la géométrie morphométrique classique et avec haute densité de *semilandmarks* de surface afin de comparer la sensibilité de quantification de variations morphologiques des deux méthodes.

Après importation dans R, les coordonnées des 25 (classique) et 525 (haute densité de *semilandmarks* de surface) ont été alignées grâce à une analyse Procruste généralisée (*Generalized Procrustes Analysis* : GPA) effectuée par la fonction « gpagen » du *package geomorph*. La GPA se déroule en 3 étapes : (1) translation des coordonnées afin de les centrer sur une origine commune, (2) mise à l'échelle des configurations de points repère pour que leur taille centroïde corresponde et (3) rotation des coordonnées afin de minimiser la distance Euclidienne entre les points (Mitteroecker & Gunz, 2009). Cette première étape permet de supprimer toute variation qui ne serait pas due uniquement à la forme des *sagittae* et de ne conserver que les coordonnées Procruste des points (variables de formes) et la taille centroïde (Kendall, 1984).

Les variables de forme issues de la GPA ont été soumises à une Analyse en Composantes Principales (ACP) (fonction « gm.princomp » du *package geomorph*) pour représenter les axes majeurs de variations de forme des *sagittae* et pour construire le morpho-

espace (Composantes Principales 1 et 2, CP 1 et 2). Afin de visualiser et caractériser au mieux ces variations de formes, des *sagitta* 3D ont été extrapolées aux extrémités du morpho-espace. Pour ce faire, une *sagitta* 3D de forme moyenne a été produite par la fonction « warpRefMesh » du *package geomorph* à partir du modèle 3D de l'individu le plus proche de la forme moyenne et des coordonnées de Procrustes moyennes. Ce modèle moyen a ensuite été projeté (déformation *thin-plate spline*) sur les valeurs minimales et maximales de CP 1 et 2 grâce à la fonction « PlotRefToTarget » du *package geomorph*.

Les variables de forme ont ensuite été soumises à une ANOVA de Procruste (fonction « ProcD.lm ») afin de vérifier l'effet des conditions expérimentales sur la forme moyenne des otolithes. De plus, la diversité morphologique des *sagittae* issue de chaque condition expérimentale a été calculée (variance de Procruste) et comparée avec la fonction « morphol.disparity ».

3. Résultats

3.1 Test des capacités auditives des poissons expérimentaux

L'audiogramme d'*O. niloticus* a mis en évidence que la sensibilité auditive chez cette espèce est plus importante entre 300 et 500 Hz, avec un optimum à 400 Hz où le seuil d'intensité sonore est de 137,8 dB ; la sensibilité auditive est minimale à la fréquence 200 Hz avec un seuil de 163,3 dB (fig. 13). L'audiogramme de *Synodontis* montre des capacités auditives meilleures que celles d'*O. niloticus* pour toutes les fréquences testées sauf pour 150 Hz. La valeur minimale seuil d'intensité sonore pour le *Synodontis* est de 94 dB pour les fréquences de 500 Hz et 1200 Hz (fig. 13).

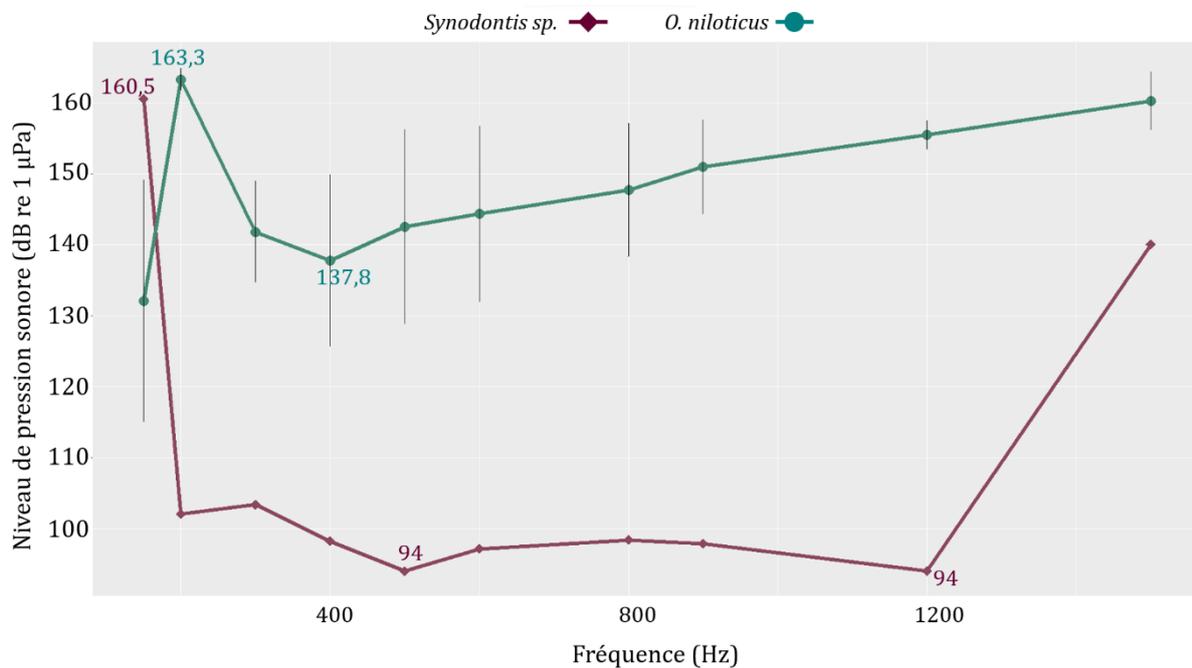


Figure 13. Audiogrammes d'*O. niloticus* (n = 5) et *Synodontis sp.* (n = 1) montrant le seuil minimum en décibels (dB re 1 µPa, moyenne ± écart type) nécessaire pour induire une réponse auditive à des fréquences (Hz) allant de 150 à 1500 Hz.

Il n'y avait aucune corrélation entre la LS des 20 individus testés et leurs seuil d'audition aux fréquences 300, 400, 500, et 600 Hz (p-valeur > 0,05). Les capacités auditives des poissons de la condition contrôle (C0) étaient similaires à celles des poissons de la condition complexe (C3) pour les quatre fréquences testées ($p \geq 0,05$) (fig. 14 & tab. 2).

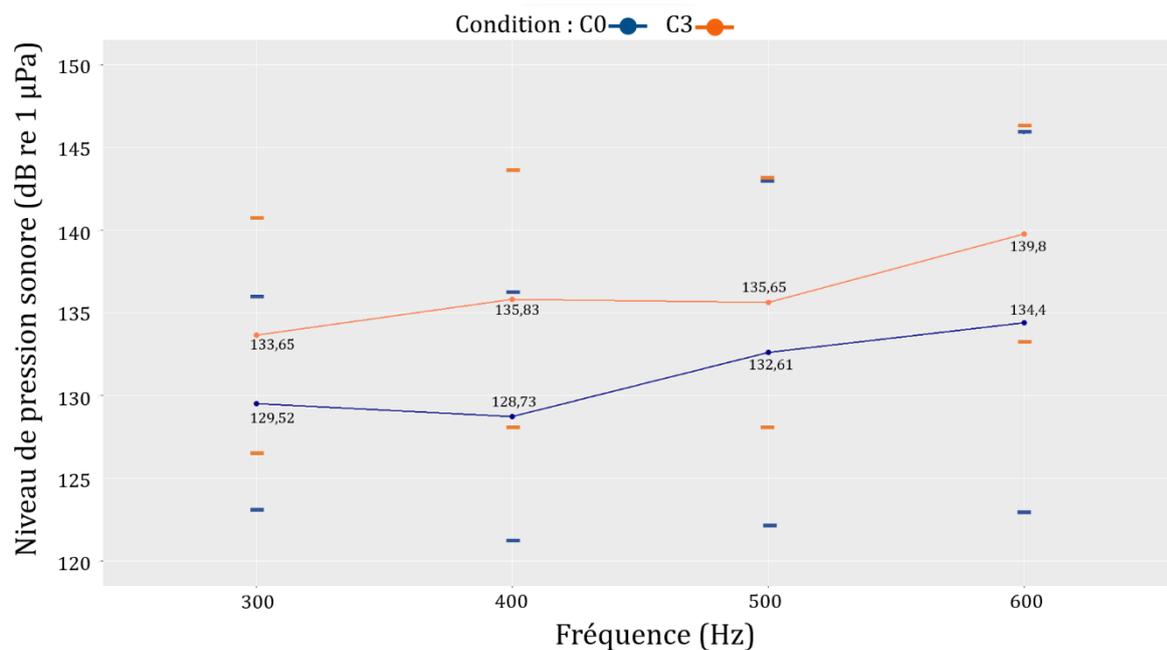


Figure 14. Graphique des AEPs réalisés montrant le seuil minimum en décibels (dB re 1 μ Pa, moyenne \pm écart type) nécessaire pour induire une réponse auditive chez *O. niloticus* en fonction de condition d'élevage contrôle (n = 10) ou complexe (n = 10) aux quatre fréquences sélectionnées. Les écarts types sont représentés par leurs maximum et minimum (tirets).

Tableau 2. Valeurs des T-tests comparant les moyennes des seuils minimum de dB des poissons des conditions C0 et C3 pour chacune des fréquences testées.

	<i>T-valeur</i>	<i>P-valeur</i>
300 Hz	-1,36	0,19
400 Hz	-2,08	0,05
500 Hz	-0,74	0,47
600 Hz	-1,29	0,21

Le bruit ambiant des aquariums d'élevage se trouve dans l'intervalle de fréquence sensible d'*O. niloticus*. À 400 Hz par exemple, fréquence à laquelle le tilapia du Nil est plus sensible, le bruit ambiant atteint une valeur maximale de 135,5 dB (fig. 15).

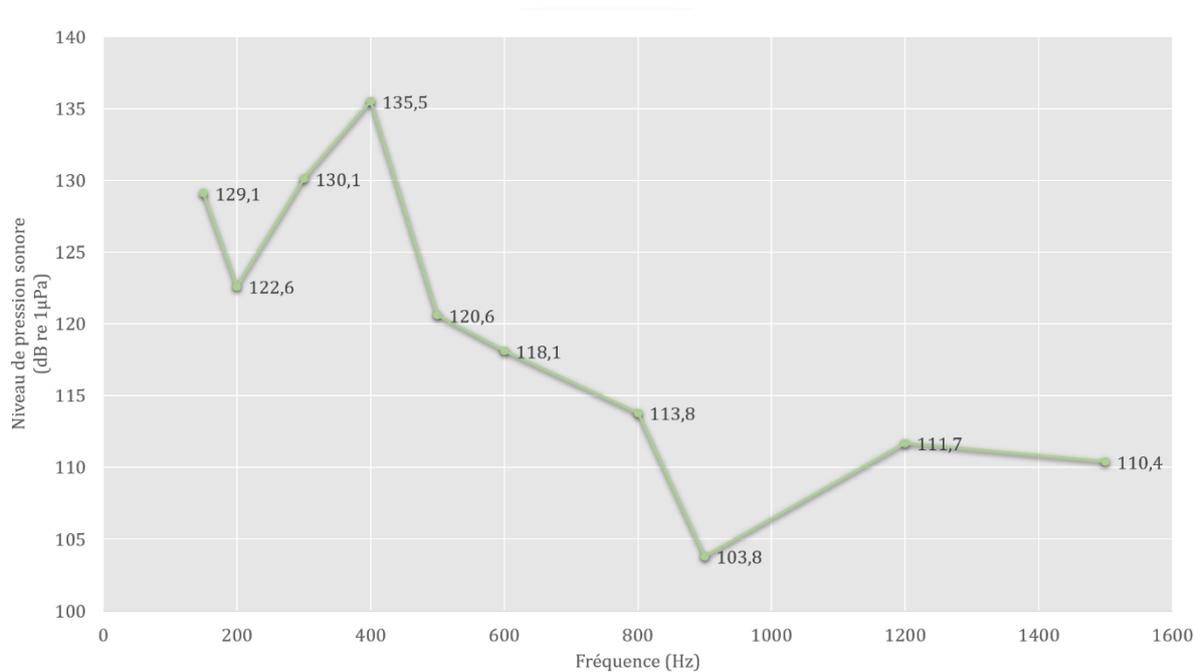


Figure 15. Bruit ambiant (intensité sonore, dB re 1 μPa) des aquariums d'élevage pour les fréquences (Hz) testées.

3.2 Analyses des mesures 2D et indices de forme

Aucune différence de LT n'a été détectée entre les deux groupes (p -valeur $> 0,05$, $W = 948$), indiquant une homogénéité de croissance des individus dans les différentes conditions expérimentales.

Les mesures linéaires et le volume sont toutes moyennement à fortement corrélées à la LT ($0,4 < \text{coefficient de corrélation} < 0,98$).

3.2.1 Tests statistiques sur les mesures linéaires et le volume

Toutes les dimensions mesurées sur les otolithes sont fortement influencées par la LT du poisson (p -valeur < 0.001) (tab. 3). De plus, la condition expérimentale influence la longueur, la largeur, le périmètre, l'aire, le volume des otolithes et les périmètre et aire du *sulcus* (p -valeur $< 0,05$) (tab. 3, **valeurs en gras**). L'effet de la condition expérimentale est toujours moins important que celui de la LT ($t\text{-valeur}_{\text{longueur de la tête}} \gg t\text{-valeur}_{\text{condition expérimentale}}$) (tab. 3).

La longueur est la dimension la plus influencée par la condition expérimentale (tab. 3, **valeurs en bleu**) et les dimensions longueur, aire et volume des otolithes sont les mesures les plus influencées par la LT : les t -valeurs des variables explicatives sont plus élevées et contribuent à une meilleure prédiction du modèle. Notons que les dimensions concernant

l'otolithe entière sont plus affectées par la condition expérimentale et la LT ($R^2 > 90\%$) par rapport à celles concernant le *sulcus*.

Tableau 3. Modèles linéaires réalisés pour chaque variables dépendantes (Y) en fonction de la longueur de la tête (X₁) et de la condition expérimentale (X₂). Les t-valeurs représentent le degré d'influence des variables explicatives ; les p-valeurs représentent la significativité statistique des relations observées ; les R² montrent la qualité de la prédiction du modèle.

Y	~	X1			X2			R ² (%)
		Longueur de la tête			Condition expérimentale			
		T-valeur	P-valeur	Pente	T-valeur	P-valeur	Pente	
Aire de l'otolithe		35,5	< 2 * 10 ⁻¹⁶	4,85	2,55	1,3 * 10 ⁻²	0,37	94,3
Périmètre de l'otolithe		26,4	< 2 * 10 ⁻¹⁶	6,37	2,68	9,0 * 10 ⁻³	0,69	90,0
Largeur de l'otolithe		27,8	< 2 * 10 ⁻¹⁶	0,81	2,20	3,1 * 10 ⁻²	0,07	90,9
Longueur de l'otolithe		44,6	< 2 * 10 ⁻¹⁶	1,27	3,29	1,0 * 10 ⁻³	0,10	96,3
Aire du sulcus		20,9	< 2 * 10 ⁻¹⁶	1,06	2,24	2,8 * 10 ⁻²	0,12	85,0
Périmètre du sulcus		24,2	< 2 * 10 ⁻¹⁶	2,66	2,06	4,3 * 10 ⁻²	0,24	88,4
Volume de l'otolithe		32,6	< 2 * 10 ⁻¹⁶	2,27	2,20	3,1 * 10 ⁻²	0,16	93,3
Largeur sulcus s15		4,53	2,2 * 10 ⁻⁵	0,06	0,78	4,4 * 10 ⁻¹	0,01	19,4
Profondeur sulcus s15		5,14	2,1 * 10 ⁻⁶	0,04	-1,36	1,8 * 10 ⁻¹	-0,01	27,2
Largeur sulcus s17		10,8	< 2 * 10 ⁻¹⁶	0,15	1,37	1,7 * 10 ⁻¹	0,02	59,7
Profondeur sulcus s17		4,03	1 * 10 ⁻⁴	0,03	-0,21	8,3 * 10 ⁻¹	-0,002	16,1
Largeur sulcus ocs		11,2	< 2 * 10 ⁻¹⁶	0,20	0,79	4,3 * 10 ⁻¹	0,01	61,8
Profondeur sulcus ocs		5,77	1,7 * 10 ⁻⁷	0,08	0,45	5,0 * 10 ⁻¹	0,007	29,0

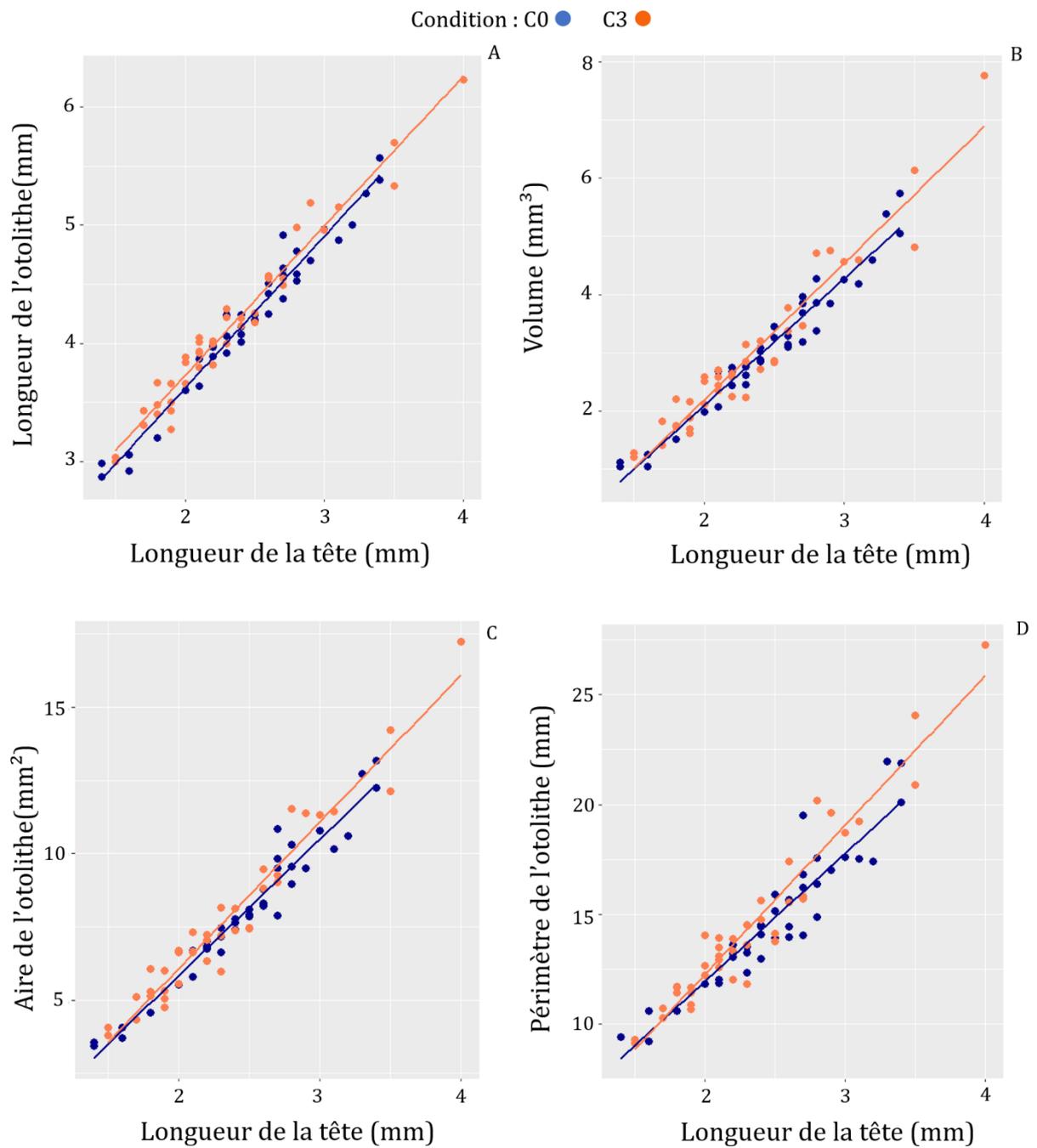


Figure 16. Modélisation de l'influence des variables longueur, PO, AO et VO en fonction de la LT et de la condition expérimentale dont l'individu est issu. Les mesures linéaires AS et PS, ainsi que celle de la largeur de l'otolithe n'ont pas été représentées graphiquement, mais leur allure est semblable à celle des graphiques représentés (annexe 1).

Les tailles d'effet des variables longueur, largeur de l'otolithe, PO, AO, VO, AS, PS, sont représentées par le coefficient d de Cohen (tab. 4). La complexité environnementale a un effet : moyen sur les variables PO, longueur, largeur et PS ($d \approx 0,5$) ; faible sur les variables AO, AS ; négligeable sur le VO.

Tableau 4. Coefficients *d* de Cohen, exprimant la taille d'effet de la condition expérimentale pour les variables : PO, longueur, largeur et PS (taille d'effet moyenne) ; AO, AS (faible taille d'effet) ; et VO (taille d'effet négligeable).

	<i>Coefficient d de Cohen</i>
<i>Aire otolithe</i>	-0.10
<i>Périmètre otolithe</i>	-0,53
<i>Longueur otolithe</i>	-0,60
<i>Largeur otolithe</i>	-0,55
<i>Aire sulcus</i>	-0,33
<i>Périmètre sulcus</i>	-0,55
<i>Volume otolithe</i>	0,02

Les graphiques de densité (fig. 17) des dimensions représentées montrent une tendance des *sagittae* de la condition complexe à être plus grandes que celles de la condition contrôle pour des poissons de même taille. La longueur et la largeur, l'aire et le périmètre des *sagittae* de la condition complexe sont supérieurs à ceux de la condition contrôle.

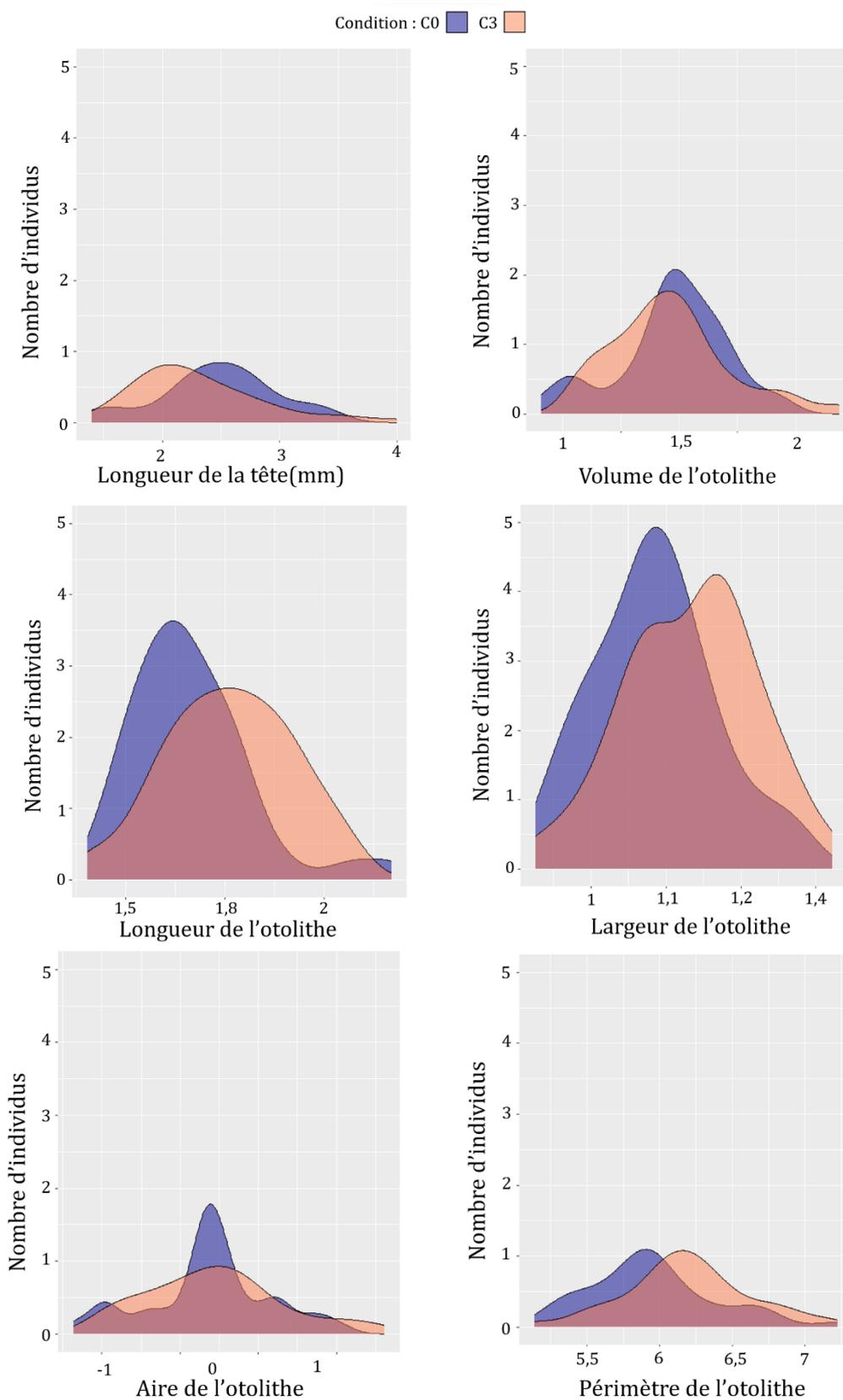


Figure 17. Graphique de densité de la LT et de VO, longueur et largeur de l'otolithe, AO et PO selon la condition expérimentale. Les mesures divisées par la LT ont été utilisées. Les graphiques de densité des AS et PS se trouvent en annexe 2.

3.2.2 Tests statistiques sur les indices de forme

Trois des six indices testés sont influencés significativement par la LT : AS/AO et LS/PrS_{s15} diminuent tandis que la circularité augmente significativement avec la LT (fig. 18). Aucun indice testé n'est influencé par la condition expérimentale (tab. 5).

Tableau 5. Modèles linéaires réalisés pour chaque **indice de forme** (Y) en fonction de la **longueur de la tête** (X1) et de la **condition expérimentale** (X2).

Y	~	X1			X2			R ² ajusté (%)
		Longueur de la tête			Condition expérimentale			
		T-valeur	P-valeur	Pente	T-valeur	P-valeur	Pente	
AS/AO		-2,99	4.10⁻³	-0,02	1,18	0,24	0,008	11,04
Circularité		10,9	<2.10⁻¹⁶	6,62	1,8	0,07	1,15	60,39
RA		-0,83	4.10 ⁻¹	-0,01	-0,02	0,98	-0,0003	-1,73
LS/PrS _{s15}		-2,77	7.10⁻³	-0,6	1,73	0,088	0,4	11,69
LS/PrS _{s17}		-0,67	5.10 ⁻¹	-0,17	0,72	0,47	0,18	-1,14
LS/PrS _{ocs}		-0,87	4.10 ⁻¹	-0,17	-0,35	0,73	-0,07	-1,56

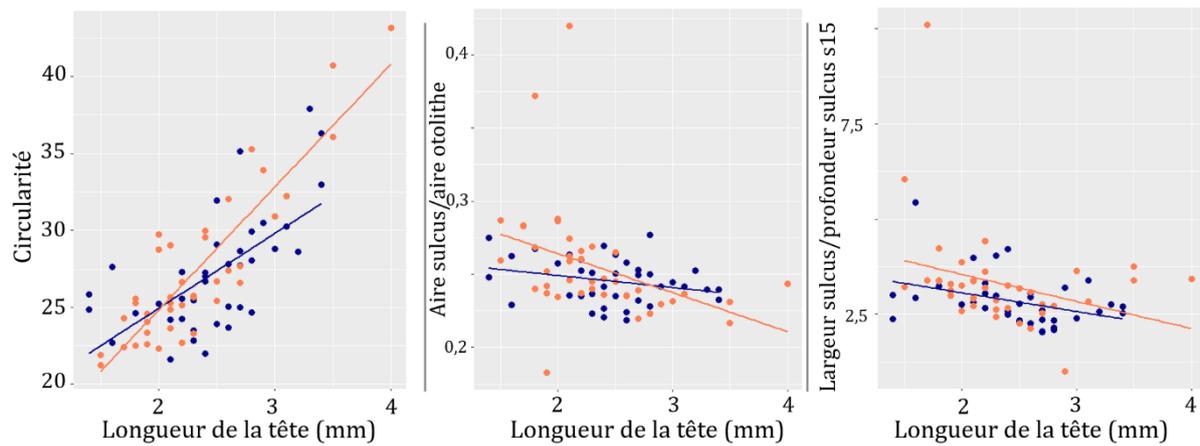


Figure 18. Modélisation de l'influence de la LT sur les variables circularité, AS/AO et LS/PrS_{s15} selon la condition expérimentale dont l'individu est issu. Les graphiques des indices pour lesquels il n'y avait pas d'effet de la LT sont en annexe 3.

3.3 Géométrie morphométrique 3D

3.3.1 Épaisseur des *sagittae*

Aucune différence significative d'épaisseur de la *sagitta* n'a été détectée entre les deux conditions expérimentales (t-valeur = -1,75 et p-valeur = 0,08).

3.3.2 Géométrie morphométrique classique

a) *Morpho-espace*

Le morpho-espace des *sagittae* est présenté à la figure 19. La Composante Principale (CP) 1 permet d'expliquer 40,22% de la variabilité et CP2 21,77%. CP 1 à 3 expliquent une variance cumulée de 60,68% ; 80% de variance cumulée sont atteints à partir de la CP8.

CP1 résume l'allongement de la *sagitta* et du rostre avec des otolithes à tendance fusiforme et une *cauda* dont la courbure est légère pour des valeurs négatives. La surface située au-dessus et en-dessous du *sulcus* varie selon l'axe de la CP1 : elle est d'environ 1/3 au-dessus et 2/3 en-dessous pour les valeurs minimales de CP1 et de 1/2 au-dessus et 1/2 en-dessous pour les valeurs maximales de CP1. La courbure caudale est marquée et le contour de la *sagitta* a tendance à être étiré sur sa portion dorso-caudale (selon l'axe dorso-caudal) pour des valeurs positives de CP1. CP2 a tendance à séparer les *sagittae* ayant un contour oblong pour des valeurs négatives, de *sagittae* à tendance ovales pour des valeurs positives. Le contour des *sagittae* est étiré dorso-caudalement (similaire à CP1 max) et le rapport de surface au-dessus et en-dessous du sulcus est de 1/3 et 2/3 pour des valeurs négatives de CP2 ; bien qu'il y ait un allongement des *sagittae*, la *cauda* n'est pas étirée et présente une courbure marquée vers les valeurs négatives de CP2. Les *sagittae* sont étirées dorso-rostralement et ventro-caudalement pour des valeurs positives de CP2, et la *cauda* présente une courbure légère (d'après la nomenclature de Tuset et al., 2008 et Smale et al., 1995).

Les variations morphologiques contenues dans CP1 et CP2 ne permettent pas de distinguer la forme de la *sagitta* selon la condition expérimentale (les morpho-espaces de la CP3-CP1 et CP3-CP2 se trouve en annexe 4) et il en résulte un recouvrement de l'espace de forme des *sagittae* des deux conditions expérimentales. Cependant, les individus de la C3 semblent morphologiquement plus disparates, avec des formes plus extrêmes, et englobent presque entièrement l'espace occupé par les individus de la C0. Certains individus de la C3, comme C3_22, C3_2 et C3_34, par exemple, s'étendent davantage vers les valeurs négatives de CP1 (fig. 19).

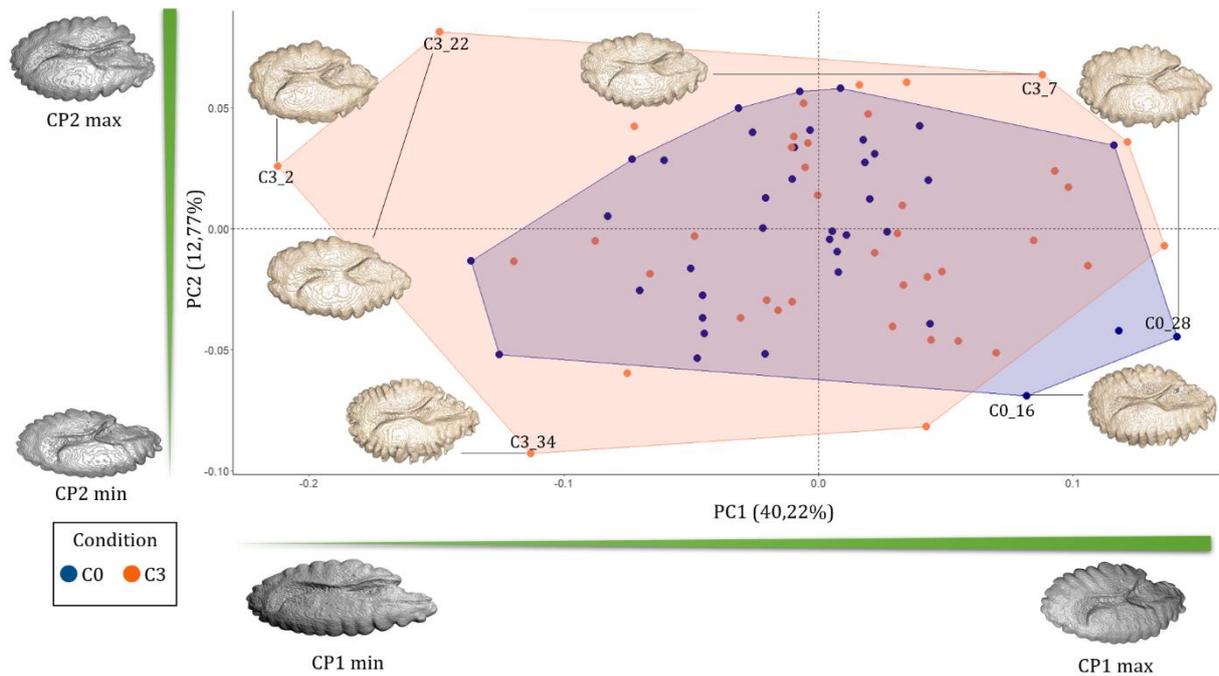


Figure 19. Morpho-espace des 78 *sagittae* 3D construits à partir de CP1 et CP2 montrant la condition environnementale dont l'individu est issu. Les modèles 3D de certains individus extrêmes sont présentés avec leur label.

b) Moyenne et disparité des formes

L'ANOVA de Procruste n'a détecté aucune différence de forme moyenne des *sagittae* en fonction des conditions expérimentales (p -valeur $> 0,05$) (tab. 6) la disparité de forme est similaire au sein des conditions expérimentales (variance de Procruste C0 = 0,009 et variance de Procruste C3 = 0,013 ; p -valeur $> 0,14$).

Tableau 6. ANOVA de Procruste effectuées sur 25 points. Équation : Coordonnées de Procruste ~ condition expérimentale. Ddl = degrés de liberté ; F = statistique de test ; Z = taille d'effet standard ; P = p -valeur.

	Ddl	R ²	F	Z	P
<i>Condition expérimentale</i>	1	0,011	0,9	0,16	0,42

3.3.3 Géométrie morphométrique à haute densité de *semilandmarks* de surface

a) Morpho-espace

Le morpho-espace basé sur la géométrie morphométrique à haute densité de *semilandmarks* de surface donne des résultats similaires à ceux de la géométrie morphométrique classique. La CP1 explique 39,47% de la variance observée, la CP2 en explique 15,74% ; une variance cumulée de 63,03% est atteinte à la CP3. Les 80% de variance cumulée sont atteints avec les 7 premières CP.

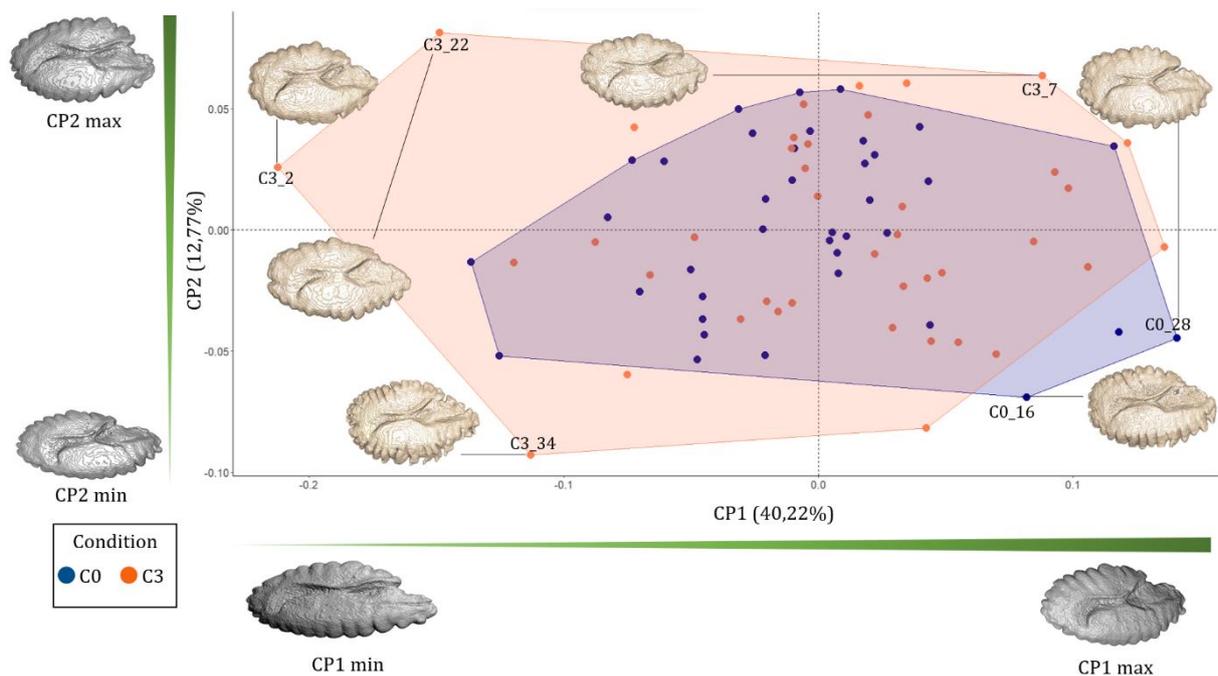


Figure 20. Morpho-espace des 78 *sagittae* 3D construits à partir de CP1 et CP2 montrant la condition environnementale dont l'individu est issu. Les modèles 3D de certains individus extrêmes sont présentés avec leur label.

Les morpho-espaces des *sagittae* issues des deux conditions expérimentales suivent le même *pattern* que celui des 25 points puisque les informations retenues dans CP1 et CP2 ne permettent pas de distinguer les *sagittae* selon la condition expérimentale (fig. 20). Les morpho-espaces de la CP3 (CP3-CP1 et CP3-CP2) sont en annexe 5.

L'information d'allongement du contour des *sagittae* est aussi retenue par CP1, bien que l'aspect fusiforme des *sagittae* aux valeurs négatives soit moins prononcé par rapport au morpho-espace des 25 points (fig. 20). CP2 résume la même information que celle du morpho-espace des 25 points mais les valeurs sont opposés : les *sagittae* de contour fusiforme se trouvent à des valeurs maximales de CP2 dans le morpho-espace des 525 points ; les surfaces

sus- et sous-ostiale sont $1/3$ et $2/3$ respectivement pour CP2 max, $1/2$ et $1/2$ pour CP2 min ; la forme du *sulcus* suit la même tendance inverse entre les deux morpho-espaces, avec une tendance plus marquée de la *cauda* pour CP2 max et une *cauda* légèrement courbe pour PC2 min. Les individus C3_22 et C3_2, par exemple, se trouvent donc aux valeurs négatives de CP2 (fig. 20) alors qu'ils se trouvent à des valeurs positives dans le morpho-espace des 25 points (fig. 19).

La variation d'épaisseur et de convexité (concavité) de *sagittae* a été retenue en géométrie morphométrique de haute densité (fig. 21) principalement sur CP2. En vue rostrale, notamment, les *sagittae* sont plus épaisses pour les valeurs maximales de CP2. En vue dorsale, les *sagittae* ont tendance à être plus convexes (ou concaves), avec une courbure plus importante dans la partie rostrale, pour des valeurs de CP2 max.

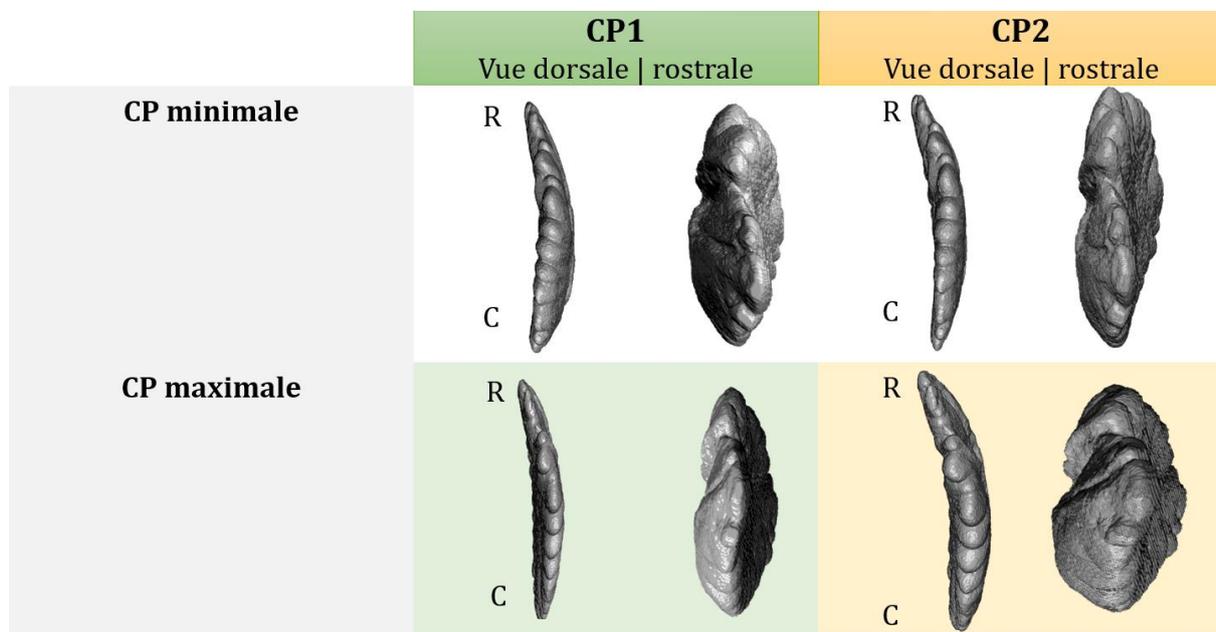


Figure 21. Otolithes obtenues par déformation *thin-plate spline* illustrant les valeurs minimales et maximales de CP 1 et 2 en vue dorsale et rostrale. R : partie rostrale ; C : partie *caudale*.

b) Moyenne et disparité des formes

Aucune différence de forme n'a été détectée entre les deux conditions expérimentales en capturant les surfaces des *sagittae* (p-valeur > 0,05) (tab. 7).

La disparité morphologique est également équivalente entre les individus issus de la condition contrôle et ceux issus de la condition complexe (Variance de Procruste C0 = 0,007 et Variance de Procruste C3 = 0,009 ; p-valeur = 0,22).

Tableau 7. ANOVA de Procruste effectuées sur 525 points. Équation : Coordonnées de Procruste ~ condition expérimentale. Ddl = degrés de liberté ; F = statistique de test ; Z = taille d'effet standard ; P = p-valeur.

	Ddl	Rsq	F	Z	P
<i>Condition expérimentale</i>	1	0,0098	0,78	-0,09	0,54

4. Discussion

4.1 La condition expérimentale influence la taille des *sagittae*

Dans ce travail, nous avons montré expérimentalement pour la première fois que la complexité structurale de l'environnement pouvait influencer la taille (longueur, largeur, périmètre, surface et volume) des *sagittae* sans affecter les capacités auditives des poissons. Les tilapias du Nil issus de la condition complexe ont développé des *sagittae* de taille supérieure, pour une croissance corporelle et des capacités auditives équivalentes.

Comme la forme et les dimensions des *sagittae* semblent génétiquement déterminées au niveau de l'espèce (Moore et al., 2022 ; Vignon & Morat, 2010), il a été supposé que des formes similaires entre espèces pourraient être le fruit de convergences évolutives résultant de facteurs environnementaux (Lombarte et al., 2010 ; Paxton, 2000). Ces variations ont été liées à divers aspects fonctionnels dans la littérature. Kéver et al. (2014) ont associé une taille de *sagitta* plus grande chez *Carapus acus* et *Ophidion rochei* à un mode de vie exigeant des mouvements plus complexes. En effet, ces deux espèces sont actives dans des environnements sombres où les repères spatiaux reposeraient davantage sur la fonction vestibulaire que sur les capacités visuelles. De plus, leurs *patterns* de mouvements liés au mode de vie, tels que se positionner verticalement dans l'eau pour entrer dans un hôte (*C. acus*) ou dans le sable (*O. rochei*), exigent une capacité de proprioception adaptée. Les auteurs ont ainsi émis l'hypothèse selon laquelle les contraintes environnementales sont probablement des facteurs contraignants pour la taille des *sagittae* de certaines espèces de poissons (Kéver et al., 2014). Lychakov et Rebane (2000) ont démontré que les poissons littoraux ou de fond, caractérisés par une taille de *sagitta* plus grande, présentent une sensibilité vestibulaire accrue par rapport aux poissons pélagiques à *sagitta* plus petite. Ces résultats soutiennent l'hypothèse selon laquelle la taille de la *sagitta* fluctue en fonction de l'environnement et de la complexité de *pattern* des mouvements nécessaire.

Si les hypothèses évolutives quant à une forme résultant de contraintes similaires existent, il n'a que très peu été testé expérimentalement si une forme d'otolithe génétiquement fixée pouvait montrer, au sein d'une même espèce, une variabilité suite à des pressions environnementales. Anken et al. (1998) ont démontré que l'application d'une hypergravité provoquait une diminution de la taille des otolithes chez *Oreochromis mossambicus*. Selon les auteurs, une boucle de rétroaction existerait entre la stimulation du système sensoriel et la régulation de la taille des otolithes : la surstimulation due à l'effet de la gravité aurait entraîné

le développement de *sagittae* plus petites chez ces poissons dans le but d'adapter la force exercée sur les cellules sensorielles de la *macula*. Les otolithes de taille plus grande, plus lourds, stimuleraient davantage la *macula* en fournissant plus d'informations spatiales aux poissons quand l'environnement et le mode de vie le nécessitent. Nos résultats ont montré qu'au sein d'une même espèce, les *sagittae* de plus grande taille sont associées à la condition expérimentale où l'environnement était le plus complexe, démontrant ainsi expérimentalement l'adaptabilité de la structure à l'environnement du poisson.

Bien que notre étude indique que l'environnement d'élevage du poisson influence en partie la taille des *sagittae*, ce facteur semble secondaire et s'ajoute à la covariation classique entre la taille des poissons et celle des *sagittae* (Gauldie, 1988). En effet, la taille des poissons reste un meilleur prédicteur de la taille des *sagittae* dans nos modèles linéaires. La croissance du tilapia du Nil est linéaire durant la première année de vie et ralentit vers l'âge de 1,5-2 ans (Bwanika et al., 2007). Les tilapias utilisés dans cette étude ont été exposés aux conditions expérimentales entre 1 et 6 mois d'âge, soit pendant leur optimum de croissance. Au cours de cette période, l'influence de la taille des poissons sur les dimensions des *sagittae* pourrait être ajustée en fonction d'autres facteurs explicatifs tels que la condition expérimentale. Comme démontré dans cette étude, la complexité de l'habitat contribue à la variation de la taille des *sagittae*, soulignant l'importance de considérer des facteurs complémentaires dans l'étude de la morphologie des *sagittae*.

Le *sulcus acusticus* est la zone de contact avec la *macula* dans le sac otolithique (Dunkelberger et al., 1980; Schulz-Mirbach et al., 2011). S'il est considéré comme l'empreinte sensorielle de la *macula*, de récentes études ont aussi montré que sa forme et taille évoluaient en parallèle de celles de l'otolithe (Lombarte, 1992 ; Van Damme et al., 2023). Ainsi, si la surface des *sagittae* augmente, la surface sensorielle pourrait augmenter également et améliorer les fonctions de l'oreille interne. Cela pourrait expliquer l'augmentation de taille observée pour les otolithes de poissons évoluant dans un milieu nécessitant des capacités vestibulaires accrues.

4.2 La condition expérimentale n'influence pas la forme des *sagittae*

Les variations interspécifiques de la forme de la *sagitta*, en lien avec l'environnement, ont été mises en évidence dans la littérature. Nolf (1993) a observé que les *sagittae* du Latidae *Luciolates stappersi* s'éloignaient de leur forme ancestrale en s'adaptant rapidement à un mode de vie épipélagique et convergeaient vers une forme allongée, de petite taille, avec un rostre proéminent et un *sulcus* incisé caractéristique de celles de poissons épipélagiques comme les Scombridae ou les Carangidae. Des variations populationnelles de forme des *sagittae*, soulevant davantage l'impact de l'environnement sur la forme, ont également été documentées. Des espèces et des populations du genre *Pagellus*, occupant des habitats différents, peuvent se distinguer par la forme de leurs *sagittae*, mais le/les facteurs (température, habitat, génotype, salinité, alimentation, etc.) à l'origine des modifications morphologiques n'ont pas été identifiés (D'Iglio et al., 2021). De même, Bose et al., (2020) ont mis en évidence des différences dans la forme des *sagittae* de deux populations d'une même espèce de poisson vivant dans des environnements différents, sans que ces différences n'aient pu être reliées à un facteur particulier de l'habitat. Schulz-Mirbach et al. (2010) ont également montré que le *sulcus* des *sagittae* de *Poecilia mexicana* diffère selon que les poissons proviennent de cavernes ou d'habitats de surface. Les capacités auditives des poissons des deux populations étant similaires, on peut supposer que les modifications impactent la fonction vestibulaire de l'oreille interne. À la différence de ces études, nous avons exclu l'influence génétique en utilisant des poissons issus de la même fratrie et nous avons efficacement isolé la complexité structurale comme unique facteur environnemental. Si la géométrie morphométrique nous a permis de caractériser des variations de forme, notamment dans l'allongement de la *sagitta* (et du rostre) et dans la courbure de la *cauda*, ces variations de forme n'ont pas pu être attribuées aux conditions d'élevage. D'autre part, la morphométrie classique et les indices de formes confirment ce résultat. Nous émettons plusieurs hypothèses pouvant expliquer cela. La première est que la complexité environnementale n'aurait pas d'effet sur la forme des *sagittae*. Cette influence de l'environnement impactant uniquement la taille rejoint les hypothèses d'une régulation génétique de la forme d'une part, et environnementale de la taille d'autre part, proposée par Lombarte et Leonard (1992). Il est également probable que les modifications documentées, tant intra- que interspécifiques, résultent d'influences multifactorielles, rendant ainsi difficile la détection de variations morphologiques fines par un facteur seul. En complément de ces deux hypothèses, il est également envisageable que, bien que la forme des *sagittae* puisse présenter une certaine plasticité phénotypique en réponse aux conditions environnementales, elle soit

principalement déterminée par des facteurs génétiques. Cette prédominance génétique masquerait les variations de forme des *sagittae* chez des individus génétiquement similaires, comme c'est le cas pour les tilapias du Nil de notre élevage.

Notons que bien que la disparité morphologique soit statistiquement équivalente entre les conditions expérimentales, certains individus de la condition complexe ont tendance à se distinguer davantage dans les morpho-espaces des *sagittae* (plus d'individus marginaux de la condition complexe) que les individus de la condition contrôle.

4.3 Les capacités auditives des tilapias sont similaires entre les conditions expérimentales

Les modifications de taille des *sagittae* et la complexité environnementale n'ont pas impacté la capacité auditive des tilapias. L'audiogramme d'*O. niloticus* issu de nos conditions expérimentales est similaire à celui établi par Smith et al. (2004). En revanche, les valeurs seuil de nos poissons sont 40 à 50 dB supérieures (Smith et al., 2004). Ces faibles capacités auditives ont pu être causées par le bruit ambiant des conditions d'élevage, compris entre 100 et 135 dB (fig. 14), ce qui est 30 dB supérieur à la gamme de bruit ambiant enregistrée dans un habitat naturel « bruyant » comme le fleuve du Danube par exemple (Amoser & Ladich, 2005). Smith et al. (2004) ont observé une élévation des seuils de pression sonore en réponse au stress auditif induit chez certaines espèces de poissons dotées de spécifications acoustiques. Cela réduirait leur sensibilité au bruit en présence d'un environnement sonore intense. Pour *O. niloticus*, ce *shift* des capacités auditives n'a pas été détecté pour une période de 28 jours. Dans nos conditions d'élevage, l'exposition au bruit ambiant a duré quatre mois. Cette exposition prolongée a augmenté le seuil de sensibilité auditive des tilapias issus de notre dispositif expérimental. Il reste cependant à préciser que l'AEP a démontré ses limites par le passé et cela rend les comparaisons avec les résultats obtenus au sein d'autres laboratoires, n'utilisant pas nécessairement le même protocole expérimental, difficiles (Ladich & Wysocki, 2009). Ainsi des spécimens de *Cyprinus carpio*, testés dans des conditions quelque peu différentes, peuvent être sensibles aux mêmes gammes de fréquences sans pour autant montrer la même sensibilité à l'amplitude des sons (Ladich & Wysocki, 2009).

4.4 Croissance et allométrie des *sagittae*

La taille du poisson, plus particulièrement de sa tête, reste la variable contribuant le plus à la variation de forme et de taille des *sagittae*. Cette relation linéaire entre la taille de la *sagitta* et la taille des poissons a été largement documentée dans la littérature (ex. Gauldie 1988) et également chez *O. niloticus* (Abouelfadl et al., 2020). En revanche, cette étude est l'une des premières à mettre en évidence une relation linéaire entre la taille du poisson et le périmètre, l'aire et le volume des *sagittae*. La croissance de la *sagitta* se ferait davantage selon l'axe antéro-postérieur (Morales-Nin et al., 2005 ; Wei & Zhu, 2022), ce qui explique que nous ayons observé que la longueur de l'otolithe soit la dimension la plus fortement corrélée à la LT.

Les indices AS/AO, la circularité et LS/PrS_{s15} présentent une relation allométrique avec la LT. Cette relation est très légèrement négative pour les indices AS/AO et LS/PrS_{s15} et positive pour la circularité de l'otolithe. Dans la littérature, la relation entre AS/AO et la taille des poissons présente des *patterns* contrastés entre différentes familles de téléostéens. Lombarte (1992) a mis en évidence une allométrie positive entre la taille des deux espèces de *Merluccius* et le rapport AS/AO. Cette relation positive a également été retrouvée chez *Pomatoschistus* (Arellano et al., 1995). Chez *Hoplosthetus atlanticus*, par contre, ce ratio est isométrique avec la taille des poissons (Gauldie, 1988). En ce qui concerne la circularité, son augmentation chez les plus grands individus de *Serranus atricauda* a été interprétée comme une plus grande irrégularité de contour des *sagittae* (Tuset et al., 2003). L'indice de rondeur pourrait confirmer cette hypothèse d'irrégularité du contour des *sagittae* observé dans le cadre de cette étude (Tuset et al., 2003). Toutefois, le contour des *sagittae* du tilapia du Nil semble visuellement plus lobé chez les individus de plus grande taille (annexe 6). L'allométrie négative de l'indice LS/PrS_{s15} indique que le *sulcus* se creuse plus qu'il ne s'élargit avec la croissance, au niveau de la partie postérieure de l'*ostium*, et que l'*ostium* serait la partie du *sulcus* la plus impactée par la croissance corporelle des individus. Une plus grande profondeur de *sulcus* et une membrane otolithique potentiellement plus épaisse pourraient amener une plus grande complexité d'orientation (3D) des cellules sensorielles de la macula et plus de possibilité d'interactions entre la macula et l'otolithe (Mirbach and Plath, 2011). D'Iglio et al. (2021) ont également discuté du lien possible entre la plus grande profondeur du *sulcus acusticus* et le fait de vivre à des niveaux d'eau plus profonds ou à la recherche de nourriture en modifiant les interactions entre les otolithes et leur épithélium sensoriel. Si la forme du *sulcus* a été étudiée de manière variée (Torres, 2000 ; Chollet-Villalpando & De Luna, 2020 ; Reichenbacher et al. 2023), un tel indice de forme intégrant la profondeur du *sulcus* n'a jamais été effectué.

4.5 Méthodes de quantification de la *sagitta*

Nous avons analysé les *sagittae* du tilapia du Nil à l'aide de deux approches : la morphométrie 2D et la géométrie morphométrique 3D. La géométrie morphométrique a été utilisée avec succès pour exprimer la diversité des formes des espèces (Tuset et al., 2016 ; Lombarte et al., 2010). Bien que l'étude des dimensions de la *sagitta* permette une distinction claire entre les poissons pélagiques et benthiques chez les Nototheniidae (Lombarte et al., 2010), la géométrie morphométrique n'a jamais été utilisée pour associer les formes des *sagittae* à un habitat au sein d'une même espèce. Dans notre étude, la morphométrie classique est efficace pour distinguer les variations de taille, et non de formes (indices), des *sagittae* en fonction des différentes conditions expérimentales. La géométrie morphométrique en 3D, puisqu'elle sépare efficacement les variations de forme et de la taille (taille centroïde), donne les mêmes résultats. Si les deux techniques sont sensiblement cohérentes, la géométrie morphométrique reste la plus efficace pour visualiser les variations morphologiques principales des *sagittae* tout en retirant l'effet de la taille (Zelditch et al., 2004). La géométrie morphométrique 3D a elle-même été appliquée avec deux sous-méthodes : la géométrie morphométrique classique se focalisant davantage sur un nombre restreint de points décrivant des structures anatomiques particulières et la géométrie morphométrique à haute densité de *semilandmarks* permettant de caractériser l'ensemble de la surface 3D de *sagittae*. Ces deux approches ont montré des résultats similaires : les *sagittae* de tilapias issus d'environnements de complexité structurale différentes ne présentent aucune différence de forme moyenne ni de diversité de forme. L'identification de quelques points homologues semble aussi efficace que la quantification morphologique de toute leur surface pour capturer la variation morphologique des *sagittae*. La quantification proposée par Tuset et al. (2016) en 2D semble robuste en 3D et représentative de la variation globale de la *sagitta*. Si l'étude des contours des *sagittae* et du *sulcus* par la géométrie morphométrique classique sont suffisants pour permettre la distinction des espèces de téléostéens (Ponton, 2006 ; Tuset et al., 2016), on peut supposer qu'elle soit également suffisamment puissante pour quantifier les variations de forme de *sagittae* caractéristiques de certains facteurs environnementaux même si les modifications sont marginales. L'utilisation de la géométrie morphométrique de haute densité, en revanche, reste utile pour quantifier des variations morphologiques marginales d'intérêt, particulièrement pour des structures présentant peu d'homologies (Fisher et al., 2022).

5. Conclusion

Nous présentons la première étude qui teste expérimentalement l'influence de conditions environnementale de complexité différente sur les caractéristiques morphologiques d'otolithes (*sagittae*) d'une espèce de poisson. Cela a permis de démontrer qu'il était possible d'induire une modification de la taille (largeur, longueur, périmètre, aire, volume) des *sagittae* d'une même espèce de téléostéen en faisant varier la complexité structurale de l'environnement dans lequel les poissons évoluent. En revanche, que ce soit par morphométrie classique, géométrie morphométrique classique ou en appliquant une grande densité de *semilandmarks*, aucun groupe morphologique ne se distingue en fonction de la complexité de l'environnement d'élevage. L'augmentation de la taille des *sagittae* sans modification des capacités auditives témoigne probablement d'une adaptation fonctionnelle au mouvement plus complexe induite par la présence d'obstacles – fonction vestibulaire de l'oreille interne. Ainsi, nous avons pu isoler pour la première fois un facteur environnemental lié à la fonction vestibulaire (autre que la gravité) capable de modifier la *sagitta*.

Bibliographie

- Abouelfadl, K. Y., Osman, A. G. M., & Aly, W. (2020). *Ageing Nile tilapia (Oreochromis niloticus) : A comparative study between scales and otoliths* | *International Journal of Aquatic Biology*. <https://ij-aquaticbiology.com/index.php/ijab/article/view/914>
- Adams D, Collyer M, Kaliontzopoulou A, Baken E (2023). “Geomorph: Software for geometric morphometric analyses. R package version 4.0.6.” <https://cran.r-project.org/package=geomorph>
- Amekawa, S., Kubota, K., Miyairi, Y., Seki, A., Kawakubo, Y., Sakai, S., Ajithprasad, P., Maemoku, H., Osada, T., & Yokoyama, Y. (2016). Fossil otoliths, from the Gulf of Kutch, Western India, as a paleo-archive for the mid- to late-Holocene environment. *Quaternary International*, 397, 281-288. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2015.07.006>
- Amoser, S., & Ladich, F. (2005a). Are hearing sensitivities of freshwater fish adapted to the ambient noise in their habitats? *Journal of Experimental Biology*, 208(18), 3533-3542. <https://doi.org/10.1242/jeb.01809>
- Amoser, S., & Ladich, F. (2005b). Are hearing sensitivities of freshwater fish adapted to the ambient noise in their habitats? *Journal of Experimental Biology*, 208(18), 3533-3542. <https://doi.org/10.1242/jeb.01809>
- Arellano, R. V., Hostens, K., & Gijssels, W. (1995). *Changes in the ratio of the sulcus acusticus area to the sagitta area of Pomatoschistus minutus and P. Iozanoi (Pisces, Gobiidae)*.
- Assis, I. O., da Silva, V. E. L., Souto-Vieira, D., Lozano, A. P., Volpedo, A. V., & Fabr e, N. N. (2020a). Ecomorphological patterns in otoliths of tropical fishes : Assessing trophic groups and depth strata preference by shape. *Environmental Biology of Fishes*, 103(4), 349-361. <https://doi.org/10.1007/s10641-020-00961-0>
- Assis, I. O., da Silva, V. E. L., Souto-Vieira, D., Lozano, A. P., Volpedo, A. V., & Fabr e, N. N. (2020b). Ecomorphological patterns in otoliths of tropical fishes : Assessing trophic groups and depth strata preference by shape. *Environmental Biology of Fishes*, 103(4), 349-361. <https://doi.org/10.1007/s10641-020-00961-0>
- Bani, A., Poursaeid, S., & Tuset, V. M. (2013). Comparative morphology of the sagittal otolith in three species of south Caspian gobies. *Journal of Fish Biology*, 82(4), 1321-1332. <https://doi.org/10.1111/jfb.12073>
- Baken E, Collyer M, Kaliontzopoulou A, Adams D (2021). “geomorph v4.0 and gmShiny: enhanced analytics and a new graphical interface for a comprehensive morphometric experience.” *Methods in Ecology and Evolution*.

- Bardua, C., Felice, R. N., Watanabe, A., Fabre, A.-C., & Goswami, A. (2019). A Practical Guide to Sliding and Surface Semilandmarks in Morphometric Analyses. *Integrative Organismal Biology*, 1(1), obz016. <https://doi.org/10.1093/iob/obz016>
- Betancur-R, R., Wiley, E. O., Arratia, G., Acero, A., Bailly, N., Miya, M., Lecointre, G., & Ortí, G. (2017). Phylogenetic classification of bony fishes. *BMC Evolutionary Biology*, 17(1), 162. <https://doi.org/10.1186/s12862-017-0958-3>
- Biolé, F. G., Callicó Fortunato, R., Thompson, G. A., & Volpedo, A. V. (2019). Application of otolith morphometry for the study of ontogenetic variations of *Odontesthes argentinensis*. *Environmental Biology of Fishes*, 102(10), 1301-1310. <https://doi.org/10.1007/s10641-019-00908-0>
- Blaxter, J. H. S., Denton, E. J., & Gray, J. A. B. (1981). Chapter 2. Acousticolateralis System in Clupeid Fishes. In W. N. Tavolga, A. N. Popper, & R. R. Fay (Éds.), *Hearing and Sound Communication in Fishes*. Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7186-5>
- Bookstein, F. L. (1992). *Morphometric Tools for Landmark Data : Geometry and Biology* (1^{re} éd.). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511573064>
- Bose, A. P. H., Zimmermann, H., Winkler, G., Kaufmann, A., Strohmeier, T., Koblmüller, S., & Sefc, K. M. (2020a). Congruent geographic variation in saccular otolith shape across multiple species of African cichlids. *Scientific Reports*, 10(1), 12820. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69701-9>
- Bose, A. P. H., Zimmermann, H., Winkler, G., Kaufmann, A., Strohmeier, T., Koblmüller, S., & Sefc, K. M. (2020b). Congruent geographic variation in saccular otolith shape across multiple species of African cichlids. *Scientific Reports*, 10(1), 12820. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69701-9>
- Boyer, D. M., Puente, J., Gladman, J. T., Glynn, C., Mukherjee, S., Yapuncich, G. S., & Daubechies, I. (2015). A New Fully Automated Approach for Aligning and Comparing Shapes. *The Anatomical Record*, 298(1), 249-276. <https://doi.org/10.1002/ar.23084>
- Bwanika, G. N., Murie, D. J., & Chapman, L. J. (2007). Comparative age and growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) in lakes Nabugabo and Wamala, Uganda. *Hydrobiologia*, 589(1), 287-301. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-0746-y>
- Campana, S. E. (2004). *Photographic Atlas of Fish Otoliths of the Northwest Atlantic Ocean*. Canadian Science Publishing. <https://doi.org/10.1139/9780660191089>
- Campana, S. E., & Neilson, J. D. (1985). Microstructure of Fish Otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42(5), 1014-1032. <https://doi.org/10.1139/f85-127>

- Campana, S. E., & Thorrold, S. R. (2001). Otoliths, increments, and elements : Keys to a comprehensive understanding of fish populations? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58(1), 30-38. <https://doi.org/10.1139/f00-177>
- Cañas, L., Stransky, C., Schlickeisen, J., Sampedro, M. P., & Fariña, A. C. (2012). Use of the otolith shape analysis in stock identification of anglerfish (*Lophius piscatorius*) in the Northeast Atlantic. *ICES Journal of Marine Science*, 69(2), 250-256. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fss006>
- Cardini, A. (2020). Less tautology, more biology? A comment on “high-density” morphometrics. *Zoomorphology*, 139(4), 513-529. <https://doi.org/10.1007/s00435-020-00499-w>
- Carson, C. (s. d.). *The effective use of effect size indices in institutional research*. Retrieved March 1, 2012.
- Castro-Gutiérrez, J., Madera-Santana, S., Rodríguez-García, C., Domínguez-Bustos, Á. R., Sarmiento-Carbajal, J., Gonçalves-Neto, J. B., & Cabrera-Castro, R. (2023). Exploring morphometric frontiers : A comprehensive study of otolith growth patterns in brown comber *Serranus hepatus* (Linnaeus, 1758). *Journal of Fish Biology*, 103(6), 1374-1381. <https://doi.org/10.1111/jfb.15544>
- Chaine, J., & Duvergier, J. (1934). *Recherches sur les Otolithes des Poissons. Étude Descriptive et Comparative de la Sagitta des Téléostéens*. <https://www.abebooks.com/Recherches-Otolithes-Poissons-%C3%89tude-Descriptive-Comparative/31083566036/bd>
- Chollet-Villalpando, J. G., & De Luna, E. (2020). A geometric morphometric approach for disparity of the sulcus acusticus of sagitta in species of Gerreidae (Teleostei : Perciformes). *Organisms Diversity & Evolution*, 20(2), 299-311. <https://doi.org/10.1007/s13127-019-00429-9>
- Clack, J. A., Fay, R. R., & Popper, A. N. (Éds.). (2016). *Evolution of the Vertebrate Ear* (Vol. 59). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-46661-3>
- Coombs, S., & Popper, A. N. (1979). Hearing differences among Hawaiian squirrelfish (family Holocentridae) related to differences in the peripheral auditory system. *Journal of Comparative Physiology ? A*, 132(3), 203-207. <https://doi.org/10.1007/BF00614491>
- Cruz, A., & Lombarte, A. (2004). Otolith size and its relationship with colour patterns and sound production. *Journal of Fish Biology*, 65(6), 1512-1525. <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2004.00558.x>
- Definitive guide to elephantnoses*. (2016, juin 13). Practical Fishkeeping. <https://www.practicalfishkeeping.co.uk/features/definitive-guide-to-elephantnoses/>
- Deges, E. T. (1969). *Molecular structure and composition of fish otoliths*. 2(2).

- Deng, X., Wagner, H.-J., & Popper, A. N. (2011). The Inner Ear and its Coupling to the Swim Bladder in the Deep-Sea Fish *Antimora rostrata* (Teleostei : Moridae). *Deep-sea research. Part I, Oceanographic research papers*, 58(1), 27-37. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2010.11.001>
- Díaz-Gil, C., Palmer, M., Catalán, I. A., Alós, J., Fuiman, L. A., García, E., Gil, M. D. M., Grau, A., Kang, A., Maneja, R. H., Mohan, J. A., Morro, B., Schaffler, J. J., Buttay, L., Riera-Batle, I., Tolosa, B., & Morales-Nin, B. (2015). Otolith fluctuating asymmetry : A misconception of its biological relevance? *ICES Journal of Marine Science*, 72(7), 2079-2089. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsv067>
- D'Iglio, C., Albano, M., Famulari, S., Savoca, S., Panarello, G., Di Paola, D., Perdichizzi, A., Rinelli, P., Lanteri, G., Spanò, N., & Capillo, G. (2021). Intra- and interspecific variability among congeneric *Pagellus* otoliths. *Scientific Reports*, 11(1), 16315. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95814-w>
- Dunkelberger, D. G., Dean, J. M., & Watabe, N. (1980). The ultrastructure of the otolithic membrane and otolith in the juvenile mummichog, *Fundulus heteroclitus*. *Journal of Morphology*, 163(3), 367-377. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051630309>
- Ecological signal in the size and shape of marine amniote teeth.* (s. d.). <https://doi.org/10.1098/rspb.2022.1214>
- Edds-Walton, P. L. (2008). 3. Structures and Functions of the Auditory Nervous System of Fishes. In J. F. Webb, R. R. Fay, & A. N. Popper (Éds.), *Fish bioacoustics*. Springer.
- Farré, M., Tuset, V., Maynou, F., Recasens, L., & Lombarte, A. (2016). Selection of landmarks and semilandmarks in fishes for geometric morphometric analyses in ecological studies : A comparative from analytical methods. *Scientia Marina*, 80. <https://doi.org/10.3989/scimar.04280.15A>
- Finfer, D. C., Leighton, T. G., & White, P. R. (2008). Issues relating to the use of a 61.5dB conversion factor when comparing airborne and underwater anthropogenic noise levels. *Applied Acoustics*, 69(5), 464-471. <https://doi.org/10.1016/j.apacoust.2007.05.008>
- Fischer, V., Bennion, R. F., Foffa, D., MacLaren, J. A., McCurry, M. R., Melstrom, K. M., & Bardet, N. (2022). Ecological signal in the size and shape of marine amniote teeth. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 289(1982), 20221214. <https://doi.org/10.1098/rspb.2022.1214>
- FishBase Glossary.* (s. d.). Consulté 28 septembre 2023, à l'adresse <https://fishbase.mnhn.fr/Glossary/Glossary.php?q=fork+length&language=english&sc=is>
- Friedman, M. (2010). Explosive morphological diversification of spiny-finned teleost fishes in the aftermath of the end-Cretaceous extinction. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1688), 1675-1683. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.2177>

- Friedman, M., & Giles, S. (2016). Chapter 2 Actinopterygians : The Ray-finned fishes—An explosion of diversity. In *Evolution of the Vertebrate Ear* (Vol. 59). Springer International Publishing.
<https://doi.org/10.1007/978-3-319-46661-3>
- Gauldie, R. W. (1988). Function, form and time-keeping properties of fish otoliths. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 91(2), 395-402. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(88\)90436-7](https://doi.org/10.1016/0300-9629(88)90436-7)
- Glasauer, S., & Neuhauss, S. (2014). Whole-genome duplication in teleost fishes and its evolutionary consequences. *Molecular genetics and genomics : MGG*, 289. <https://doi.org/10.1007/s00438-014-0889-2>
- Goswami, A., Watanabe, A., Felice, R. N., Bardua, C., Fabre, A.-C., & Polly, P. D. (2019). High-Density Morphometric Analysis of Shape and Integration : The Good, the Bad, and the Not-Really-a-Problem. *Integrative and Comparative Biology*, 59(3), 669-683. <https://doi.org/10.1093/icb/icz120>
- Gunz, P., & Mitteroecker, P. (2013). SEMILANDMARKS : A METHOD FOR QUANTIFYING CURVES AND SURFACES. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 24(1). <https://doi.org/10.4404/hystrix-24.1-6292>
- Haberthür, D., Law, M., Ford, K., Häsler, M., Seehausen, O., & Hluschchuk, R. (2023). Microtomographic investigation of a large corpus of cichlids. *PLOS ONE*, 18(9), e0291003.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291003>
- He, T., Cheng, J., Qin, J., Li, Y., & Gao, T. (2018). Comparative analysis of otolith morphology in three species of Scomber. *Ichthyological Research*, 65(2), 192-201. <https://doi.org/10.1007/s10228-017-0605-4>
- Hecht, T., & Hecht, A. (1978). A DESCRIPTIVE SYSTEMATIC STUDY OF THE OTOLITHS OF THE NEOPTERYGEAN MARINE FISHES OF SOUTH AFRICA PART II. THE DELIMITATION OF TELEOST ORDERS, SOME SYSTEMATIC NOTES AND A PROVISIONAL NEW PHYLETIC ORDER SEQUENCE. *Transactions of the Royal Society of South Africa*, 43(2), 199-218.
<https://doi.org/10.1080/00359197809520237>
- Ibáñez, A. L., Hernández-Fraga, K., & Alvarez-Hernández, S. (2017). Discrimination analysis of phenotypic stocks comparing fish otolith and scale shapes. *Fisheries Research*, 185, 6-13.
<https://doi.org/10.1016/j.fishres.2016.09.025>
- Jurd, R. D. (1985). SPECIALISATION IN THE TELEOST AND ANURAN IMMUNE RESPONSE : A COMPARATIVE CRITIQUE. In *Fish Immunology* (p. 9-28). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-469230-5.50006-4>

- Kalish, J. M., Beamish, R. J., Brothers, E. B., Casselman, J. M., Francis, R. I. C. C., Mosegaard, H., Panfili, J., Prince, E. D., Thresher, R. E., Wilson, C. A., & Wright, P. J. (1995). *Glossary for otolith studies*. 19.
- Kasumyan, A. O. (2004). *The Vestibular System and Sense of Equilibrium in Fish*. 44.
- Kasumyan, A. O. (2005). *Structure and Function of the Auditory System in Fishes*. 45.
- Kendall, D. G. (1984). Shape Manifolds, Procrustean Metrics, and Complex Projective Spaces. *Bulletin of the London Mathematical Society*, 16(2), 81-121. <https://doi.org/10.1112/blms/16.2.81>
- Kenyon, T. N., Ladich, F., & Yan, H. Y. (1998). A comparative study of hearing ability in fishes : The auditory brainstem response approach. *Journal of Comparative Physiology. A, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 182(3), 307-318. <https://doi.org/10.1007/s003590050181>
- Kéver, L., Colleye, O., Herrel, A., Romans, P., & Parmentier, E. (2014). Hearing capacities and otolith size in two ophidiiform species (*Ophidion rochei* and *Carapus acus*). *Journal of Experimental Biology*, 217(14), 2517-2525. <https://doi.org/10.1242/jeb.105254>
- Klingenberg, C. P. (2016a). Size, shape, and form : Concepts of allometry in geometric morphometrics. *Development Genes and Evolution*, 226, 113-137. <https://doi.org/10.1007/s00427-016-0539-2>
- Klingenberg, C. P. (2016b). Size, shape, and form : Concepts of allometry in geometric morphometrics. *Development Genes and Evolution*, 226, 113-137. <https://doi.org/10.1007/s00427-016-0539-2>
- Krysl, P., Hawkins, A. D., Schilt, C., & Cranford, T. W. (2012). Angular Oscillation of Solid Scatterers in Response to Progressive Planar Acoustic Waves : Do Fish Otoliths Rock? *PLoS ONE*, 7(8), e42591. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042591>
- Kuhl, F. P., & Giardina, C. R. (1982). Elliptic Fourier features of a closed contour. *Computer Graphics and Image Processing*, 18(3), 236-258. [https://doi.org/10.1016/0146-664X\(82\)90034-X](https://doi.org/10.1016/0146-664X(82)90034-X)
- Ladich, F. (2014). Diversity in Hearing in Fishes : Ecoacoustical, Communicative, and Developmental Constraints. In C. Köppl, G. A. Manley, A. N. Popper, & R. R. Fay (Éds.), *Insights from Comparative Hearing Research* (p. 289-321). Springer. https://doi.org/10.1007/2506_2013_26
- Ladich, F., & Schulz-Mirbach, T. (2013). Hearing in Cichlid Fishes under Noise Conditions. *PLOS ONE*, 8(2), e57588. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057588>
- Ladich, F., & Schulz-Mirbach, T. (2016). Diversity in Fish Auditory Systems : One of the Riddles of Sensory Biology. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 4. <https://doi.org/10.3389/fevo.2016.00028>

- Ladich, F., & Wysocki, L. E. (2009). Does speaker presentation affect auditory evoked potential thresholds in goldfish? *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 154(3), 341-346. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.07.004>
- Lechner, W., Wysocki, L., & Ladich, F. (2010). Ontogenetic development of auditory sensitivity and sound production in squeaker catfish *Synodontis schoutedeni*. *BMC biology*, 8, 10. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-8-10>
- Lecomte-Finiger, R. (1999). L'otolithe : La boîte noire des téléostéens. *Année Biologique*, 38, 107-122.
- Lee, D. K. (2016). Alternatives to P value : Confidence interval and effect size. *Korean Journal of Anesthesiology*, 69(6), 555-562. <https://doi.org/10.4097/kjae.2016.69.6.555>
- Lestrel, P. E. (1997). Introduction and overview of Fourier descriptors. In P. E. Lestrel (Éd.), *Fourier Descriptors and their Applications in Biology* (1^{re} éd., p. 22-44). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511529870.003>
- Libungan, L. A., Óskarsson, G. J., Slotte, A., Jacobsen, J. A., & Pálsson, S. (2015). Otolith shape : A population marker for Atlantic herring *Clupea harengus*. *Journal of Fish Biology*, 86(4), 1377-1395. <https://doi.org/10.1111/jfb.12647>
- Lieury, A. (2020). V. L'équilibre... des cristaux dans la tête ! In *Manuel visuel de psychologie cognitive: Vol. 4e éd.* (p. 55-56). Dunod. <https://www.cairn.info/manuel-visuel-de-psychologie-cognitive--9782100801183-p-55.htm>
- Lombarte, A. (1992a). Changes in otolith area : Sensory area ratio with body size and depth. *Environmental Biology of Fishes*, 33(4), 405-410. <https://doi.org/10.1007/BF00010955>
- Lombarte, A. (1992b). Changes in otolith area : Sensory area ratio with body size and depth. *Environmental Biology of Fishes*, 33(4), 405-410. <https://doi.org/10.1007/BF00010955>
- Lombarte, A., & Cruz, A. (2007a). Otolith size trends in marine fish communities from different depth strata. *Journal of Fish Biology*, 71(1), 53-76. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01465.x>
- Lombarte, A., & Cruz, A. (2007b). Otolith size trends in marine fish communities from different depth strata. *Journal of Fish Biology*, 71(1), 53-76. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01465.x>
- Lombarte, A., & Lleonart, J. (1993a). Otolith size changes related with body growth, habitat depth and temperature. *Environmental Biology of Fishes*, 37(3), 297-306. <https://doi.org/10.1007/BF00004637>
- Lombarte, A., & Lleonart, J. (1993b). Otolith size changes related with body growth, habitat depth and temperature. *Environmental Biology of Fishes*, 37(3), 297-306. <https://doi.org/10.1007/BF00004637>

- Lombarte, A., Palmer, M., Matallanas, J., Gómez-Zurita, J., & Morales-Nin, B. (2010). Ecomorphological trends and phylogenetic inertia of otolith sagittae in Nototheniidae. *Environmental Biology of Fishes*, 89(3), 607-618. <https://doi.org/10.1007/s10641-010-9673-2>
- Lugli, M. (2010). Sounds of shallow water fishes pitch within the quiet window of the habitat ambient noise. *Journal of Comparative Physiology A*, 196(6), 439-451. <https://doi.org/10.1007/s00359-010-0528-2>
- Lychakov, D. V., & Rebane, Y. T. (2000). Otolith regularities. *Hearing Research*, 143(1-2), 83-102. [https://doi.org/10.1016/S0378-5955\(00\)00026-5](https://doi.org/10.1016/S0378-5955(00)00026-5)
- Mahé, K., Joly, L. J., Telliez, S., Zambonino-Infante, J. L., Meunier, C. L., MacKenzie, K. M., & Giraldo, C. (2023). Effect of temperature and CO2 concentration on the morphogenesis of sagittal otoliths in Atlantic herring (*Clupea harengus*) larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 558, 151829. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2022.151829>
- Mahé, K., MacKenzie, K., Ider, D., Massaro, A., Hamed, O., Jurado-Ruzafa, A., Gonçalves, P., Anastasopoulou, A., Jadaud, A., Mytilineou, C., Randon, M., Elleboode, R., Morell, A., Ramdane, Z., Smith, J., Bekaert, K., Amara, R., de Pontual, H., & Ernande, B. (2021). Directional Bilateral Asymmetry in Fish Otolith : A Potential Tool to Evaluate Stock Boundaries? *Symmetry*, 13(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/sym13060987>
- Mann, S., Parker, S. B., Ross, M. D., Skarnulis, A. J., & Williams, R. J. P. (1983). The Ultrastructure of the Calcium Carbonate Balance Organs of the Inner Ear : An Ultra-High Resolution Electron Microscopy Study. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 218(1213), 415-424.
- Marinewise. (s. d.). Marinewise. *Marinewise*. Consulté 25 septembre 2023, à l'adresse <https://marinewise.com.au/fish-species/epaulette-soldierfish/>
- McCormick, C. A., & Popper, A. N. (1984). Auditory sensitivity and psychophysical tuning curves in the elephant nose fish, *Gnathonemus petersii*. *Journal of Comparative Physiology A*, 155(6), 753-761. <https://doi.org/10.1007/BF00611592>
- Mélotte, G., Parmentier, E., Michel, C., Herrel, A., & Boyle, K. (2018). Hearing capacities and morphology of the auditory system in Serrasalimidae (Teleostei : Otophysi). *Scientific Reports*, 8(1), 1281. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19812-1>
- Mitteroecker, P., & Gunz, P. (2009). Advances in Geometric Morphometrics. *Evolutionary Biology*, 36(2), 235-247. <https://doi.org/10.1007/s11692-009-9055-x>

- Montanini, S., Stagioni, M., Valdrè, G., Tommasini, S., & Vallisneri, M. (2015). Intra-specific and inter-specific variability of the sulcus acusticus of sagittal otoliths in two gurnard species (Scorpaeniformes, Triglididae). *Fisheries Research*, *161*, 93-101. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2014.07.003>
- Monteiro, L. R., Beneditto, A. P. M. D., Guillermo, L. H., & Rivera, L. A. (2005). Allometric changes and shape differentiation of sagitta otoliths in sciaenid fishes. *Fisheries Research*, *74*(1-3), 288-299. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2005.03.002>
- Moore, B. R., Parker, S. J., & Pinkerton, M. H. (2022). Otolith shape as a tool for species identification of the grenadiers *Macrourus caml* and *M. whitsoni*. *Fisheries Research*, *253*, 106370. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2022.106370>
- Morales-Nin, B. (2000). Review of the growth regulation processes of otolith daily increment formation. *Fisheries Research*, *46*(1-3), 53-67. [https://doi.org/10.1016/S0165-7836\(00\)00133-8](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(00)00133-8)
- Morales-Nin, B., Bauza, D., & Grau, A. M. (2005). *Otolith characteristics and age estimation of an exceptionally old dogtooth grouper (Epinephelus caninus) captured off Majorca Island (western Mediterranean)*.
- Near, T. J., Eytan, R. I., Dornburg, A., Kuhn, K. L., Moore, J. A., Davis, M. P., Wainwright, P. C., Friedman, M., & Smith, W. L. (2012). Resolution of ray-finned fish phylogeny and timing of diversification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(34), 13698-13703. <https://doi.org/10.1073/pnas.1206625109>
- Nelson, E. M. (1955). *Fieldiana : Zoology* (Vol. 37, p. 1-30). Chicago Natural History Museum. <https://www.biodiversitylibrary.org/item/20904>
- Nolf. (2018). *Otoliths of fishes from the north sea and the english channel*.
- Nolf, D. (s. d.). *A Survey of Perciform Otoliths and their Interest for Phylogenetic Analysis, with an Iconographic Synopsis of the Percoidei*.
- Nolf, D. (1993). *A Survey of Perciform Otoliths and their Interest for Phylogenetic Analysis, with an Iconographic Synopsis of the Percoidei*.
- NOLF, D., DE POTTER, H., & LAFOND-GRELLETY, J. (2009). *Hommage à Joseph CHAINE et Jean Duvergier. Diversité et variabilité des otolithes des poissons*.
- Omar, A., & El-Ghazali, H. (2016). PDF Quantitative Developmental Studies on the Otolith of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) with Reference to Weight and Length. *Zagazig Veterinary Journal*, *44*(2), 177-186. <https://doi.org/10.21608/zvjz.2016.7860>
- Omar, A., & Moselhy, A. A. (s. d.). *Comparative anatomical studies on the otoliths (Ear stones) of some fishes*.

- Panfili, J. (Éd.). (2002a). Chapitre VIII - Preparation and observation techniques. In *Manual of fish sclerochronology* (Engl. ed.). Ifremer [u.a.].
- Panfili, J. (Éd.). (2002b). *Manual of fish sclerochronology* (Engl. ed.). Ifremer [u.a.].
- Panfili, J., & Troadec, H. (Éds.). (2002). *Manual of fish sclerochronology*. Ifremer.
- Pannella, G. (1971). Fish Otoliths : Daily Growth Layers and Periodical Patterns. *Science*, 173(4002), 1124-1127. <https://doi.org/10.1126/science.173.4002.1124>
- Parisi-Baradad, V., Lombarte, A., Garcia-Ladona, E., Cabestany, J., Piera, J., & Chic, O. (2005). Otolith shape contour analysis using affine transformation invariant wavelet transforms and curvature scale space representation. *Marine and Freshwater Research*, 56(5), 795. <https://doi.org/10.1071/MF04162>
- Parmentier, E. (2001). Morpho-anatomy of the otic region in carapid fishes : Eco-morphological study of their otoliths. *Journal of Fish Biology*, 58(4), 1046-1061. <https://doi.org/10.1006/jfbi.2000.1511>
- Parmentier, E., Colleye, O., & Mann, D. (2009). Hearing ability in three clownfish species. *Journal of Experimental Biology*, 212(13), 2023-2026. <https://doi.org/10.1242/jeb.030270>
- Parmentier, E., Marucco Fuentes, E., Millot, M., Raick, X., & Thiry, M. (2021). Sound production, hearing sensitivity, and in-depth study of the sound-producing muscles in the cowfish (*Lactoria cornuta*). *Journal of Anatomy*, 238(4), 956-969. <https://doi.org/10.1111/joa.13353>
- Parmentier, E., Vandewalle, P., & Lagardere, F. (2001). Morpho-anatomy of the otic region in carapid fishes : Eco-morphological study of their otoliths. *Journal of Fish Biology*, 58(4), 1046-1061. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2001.tb00554.x>
- Pavlov, D., Emel'yanova, N., Vo, H., & Thuan, L. (2013). Age and growth of manybar goatfish *Parupeneus multifasciatus* (Mullidae) from the Nha Trang Bay of the South China Sea. *Journal of Ichthyology*, 53. <https://doi.org/10.1134/S003294521304005X>
- Paxton, J. R. (2000). Fish otoliths : Do sizes correlate with taxonomic group, habitat and/or luminescence? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0688>
- Peck, J. E. (1994). Development of hearing. Part I : Phylogeny. *Journal of the American Academy of Audiology*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Development-of-hearing.-Part-I%3A-Phylogeny.-Peck/081d26419ac71bd2c9202843db14665ad7e3d344>
- Ponton, D. (2006). Is geometric morphometrics efficient for comparing otolith shape of different fish species? *Journal of Morphology*, 267(6), 750-757. <https://doi.org/10.1002/jmor.10439>

- Popper, A. N., & Coombs, S. (1982a). The Morphology and Evolution of the Ear in Actinopterygian Fishes. *American Zoologist*, 22(2), 311-328. <https://doi.org/10.1093/icb/22.2.311>
- Popper, A. N., & Coombs, S. (1982b). The Morphology and Evolution of the Ear in Actinopterygian Fishes. *American Zoologist*, 22(2), 311-328. <https://doi.org/10.1093/icb/22.2.311>
- Popper, A. N., & Fay, R. R. (1993). Sound Detection and Processing by Fish : Critical Review and Major Research Questions (Part 2 of 2). *Brain, Behavior and Evolution*, 41(1), 26-38. <https://doi.org/10.1159/000316111>
- Popper, A. N., & Fay, R. R. (2011). Rethinking sound detection by fishes. *Hearing Research*, 273(1-2), 25-36. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2009.12.023>
- Popper, A. N., & Hawkins, A. (Éds.). (2012). *The Effects of Noise on Aquatic Life* (Vol. 730). Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7311-5>
- Popper, A. N., & Lu, Z. (2000). Structure–function relationships in fish otolith organs. *Fisheries Research*, 46(1), 15-25. [https://doi.org/10.1016/S0165-7836\(00\)00129-6](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(00)00129-6)
- Popper, A. N., Ramcharitar, J., & Campana, S. E. (2005). Why otoliths? Insights from inner ear physiology and fisheries biology. *Marine and Freshwater Research*, 56(5), 497. <https://doi.org/10.1071/MF04267>
- Popper, A. N., & Schilt, C. R. (2008). Hearing and Acoustic Behavior : Basic and Applied Considerations. In J. F. Webb, R. R. Fay, & A. N. Popper (Éds.), *Fish Bioacoustics* (Vol. 32, p. 17-48). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-0-387-73029-5_2
- Poulson, T. L. (1963). Cave Adaptation in Amblyopsid Fishes. *The American Midland Naturalist*, 70(2), 257-290. <https://doi.org/10.2307/2423056>
- Price, S. A., Friedman, S. T., Corn, K. A., Martinez, C. M., Larouche, O., & Wainwright, P. C. (2019). Building a Body Shape Morphospace of Teleostean Fishes. *Integrative and Comparative Biology*, 59(3), 716-730. <https://doi.org/10.1093/icb/icz115>
- Quindazzi, M. J., Gaffney, L. P., Polard, E., Bohlender, N., Duguid, W., & Juanes, F. (2023). Otolith mineralogy affects otolith shape asymmetry : A comparison of hatchery and natural origin Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Journal of Fish Biology*, 102(4), 870-882. <https://doi.org/10.1111/jfb.15329>
- Raick, X., Di Iorio, L., Gervaise, C., Lossent, J., Lecchini, D., & Parmentier, É. (2021). From the Reef to the Ocean : Revealing the Acoustic Range of the Biophony of a Coral Reef (Moorea Island, French Polynesia). *Journal of Marine Science and Engineering*, 9(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/jmse9040420>

- Ralf H. Anken, Thomas Kappel, Hinri. (1998). Morphometry of Fish Inner Ear Otoliths after Development at 3g Hypergravity. *Acta Oto-Laryngologica*, 118(4), 534-539.
<https://doi.org/10.1080/00016489850154685>
- Ramcharitar, J. U., Deng, X., Ketten, D., & Popper, A. N. (2004). Form and function in the unique inner ear of a teleost : The silver perch (*Bairdiella chrysoura*). *The Journal of Comparative Neurology*, 475(4), 531-539. <https://doi.org/10.1002/cne.20192>
- Ravi, V., & Venkatesh, B. (2008). Rapidly evolving fish genomes and teleost diversity. *Current Opinion in Genetics & Development*, 18(6), 544-550. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2008.11.001>
- Rawat, S., Benakappa, S., Kumar, J., Naik, K., Pandey, G., & Pema, C. W. (2017). Identification of fish stocks based on Truss Morphometric : A review. *Journal of Fisheries and Life Sciences*, 2, 9-14.
- Roberts, W. M., Howard, J., & Hudspeth, A. J. (1988). Hair Cells : Transduction, Tuning, and Transmission in the Inner Ear. *Annual Review of Cell Biology*, 4(1), 63-92.
<https://doi.org/10.1146/annurev.cb.04.110188.000431>
- Rodgveller, C. J., Hutchinson, C. E., Harris, J. P., Vulstek, S. C., & Guthrie, C. M. (2017). Otolith shape variability and associated body growth differences in giant grenadier, *Albatrossia pectoralis*. *PLoS ONE*, 12(6), e0180020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180020>
- Rogers, P. H., Popper, A. N., Hastings, M. C., & Saidel, W. M. (1988). Processing of acoustic signals in the auditory system of bony fish. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 83(1), 338-349.
<https://doi.org/10.1121/1.396444>
- Rohlf, F., & Slice, D. (1990). Extensions of the Procrustes Method for the Optimal Superimposition of Landmarks. *Systematic Zoology*, 39. <https://doi.org/10.2307/2992207>
- Schilt, C. R., & Popper, A. N. (2008). 2. Hearing and Acoustic Behavior : Basic and Applied Considerations. In J. F. Webb, R. R. Fay, & A. N. Popper (Éds.), *Fish bioacoustics*. Springer.
- Schulz-Mirbach, T., Heß, M., & Plath, M. (2011a). Inner Ear Morphology in the Atlantic Molly *Poecilia mexicana*—First Detailed Microanatomical Study of the Inner Ear of a Cyprinodontiform Species. *PLoS ONE*, 6(11), e27734. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027734>
- Schulz-Mirbach, T., Heß, M., & Plath, M. (2011b). Inner Ear Morphology in the Atlantic Molly *Poecilia mexicana*—First Detailed Microanatomical Study of the Inner Ear of a Cyprinodontiform Species. *PLoS ONE*, 6(11), e27734. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027734>
- Schulz-Mirbach, T., Heß, M., & Plath, M. (2011c). Inner Ear Morphology in the Atlantic Molly *Poecilia mexicana*—First Detailed Microanatomical Study of the Inner Ear of a Cyprinodontiform Species. *PLoS ONE*, 6(11), e27734. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027734>

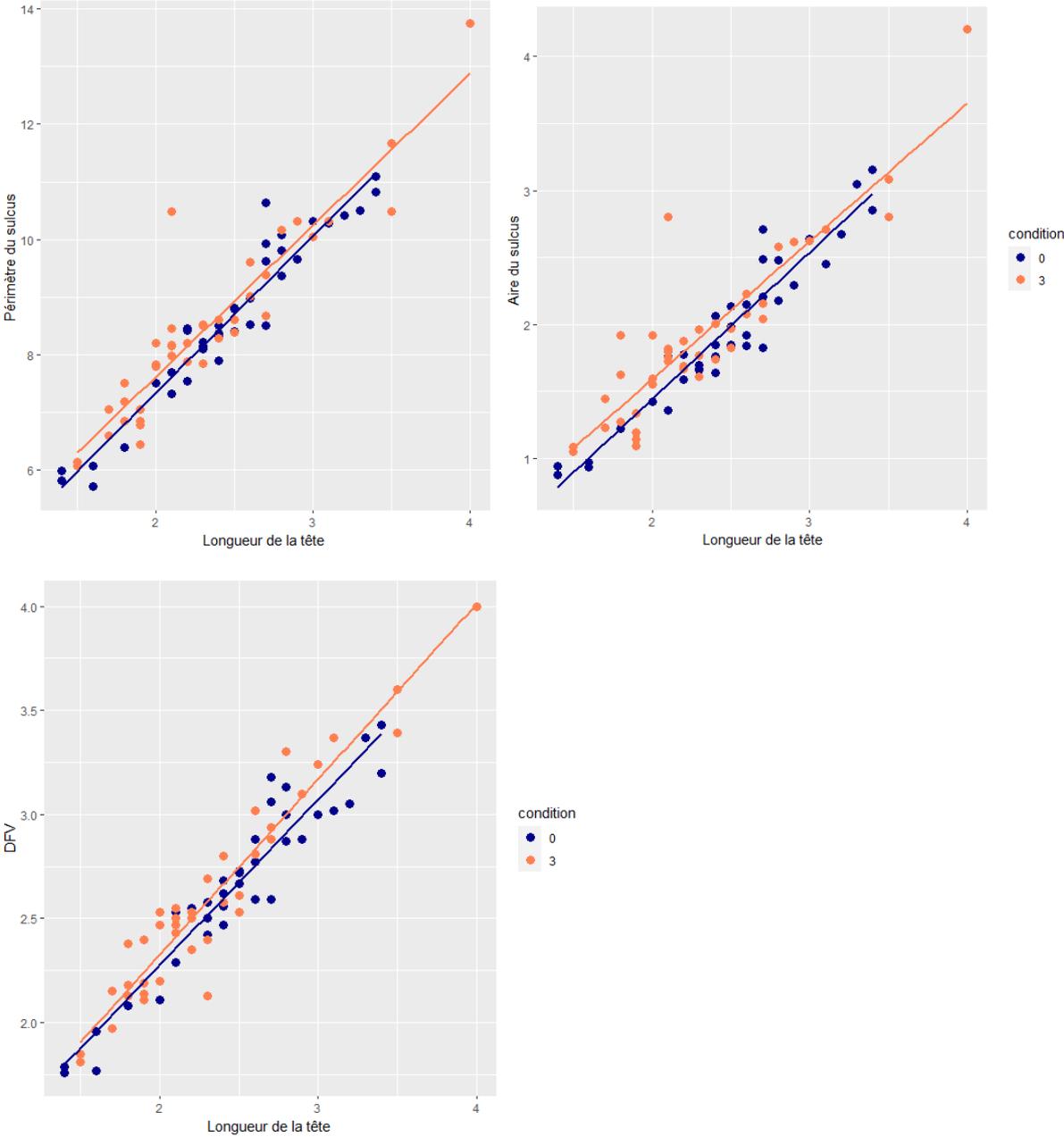
- Schulz-Mirbach, T., & Ladich, F. (2021). The Evolution of Enhanced Cichlid Hearing : Functional Morphology and the Role of Ecoacoustical Factors. In M. E. Abate & D. L. G. Noakes (Éds.), *The Behavior, Ecology and Evolution of Cichlid Fishes* (p. 503-539). Springer Netherlands.
https://doi.org/10.1007/978-94-024-2080-7_14
- Schulz-Mirbach, T., Ladich, F., Plath, M., & Heß, M. (2019). Enigmatic ear stones : What we know about the functional role and evolution of fish otoliths. *Biological Reviews*, 94(2), 457-482.
<https://doi.org/10.1111/brv.12463>
- Schulz-Mirbach, T., Ladich, F., Plath, M., Metscher, B. D., & Heß, M. (2014). Are accessory hearing structures linked to inner ear morphology? Insights from 3D orientation patterns of ciliary bundles in three cichlid species. *Frontiers in Zoology*, 11(1), 25. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-11-25>
- Schulz-Mirbach, T., Ladich, F., Riesch, R., & Plath, M. (2010). Otolith morphology and hearing abilities in cave- and surface-dwelling ecotypes of the Atlantic molly, *Poecilia mexicana* (Teleostei : Poeciliidae). *Hearing Research*, 267(1-2), 137-148. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2010.04.001>
- Schulz-Mirbach, T., Metscher, B., & Ladich, F. (2012). Relationship between Swim Bladder Morphology and Hearing Abilities—A Case Study on Asian and African Cichlids. *PLoS ONE*, 7(8), e42292.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042292>
- Schulz-Mirbach, T., Riesch, R., García de León, F. J., & Plath, M. (2011). Effects of extreme habitat conditions on otolith morphology – a case study on extremophile livebearing fishes (*Poecilia mexicana*, *P. sulphuraria*). *Zoology*, 114(6), 321-334. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2011.07.004>
- Schwarzhan, W. (2003). *Otolithen aus den Gerhartsreiter Schichten (Oberkreide : Maastricht) des Gerhartsreiter Grabens (Oberbayern)*. <https://doi.org/10.13140/2.1.4019.2641>
- Semon, M., & Wolfe, K. H. (2006). Rearrangement Rate following the Whole-Genome Duplication in Teleosts. *Molecular Biology and Evolution*, 24(3), 860-867. <https://doi.org/10.1093/molbev/msm003>
- Sierra-Flores, R. (2014). *Environmental management of Atlantic cod (*Gadus morhua*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) : Implications of noise, light and substrate*.
<https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3304.3040>
- Smale, M. J., Smale, M. J., Watson, G., & Hecht, T. (1995). *Otolith atlas of southern African marine fishes: Vol. no. 1 (1995:Jun.)* (p. 1-418). J.L.B. Smith Institute of Ichthyology.
<https://doi.org/10.5962/bhl.title.141860>
- Smith, M. E., Kane, A. S., & Popper, A. N. (2004a). Acoustical stress and hearing sensitivity in fishes : Does the linear threshold shift hypothesis hold water? *Journal of Experimental Biology*, 207(20), 3591-3602. <https://doi.org/10.1242/jeb.01188>

- Smith, M. E., Kane, A. S., & Popper, A. N. (2004b). Acoustical stress and hearing sensitivity in fishes : Does the linear threshold shift hypothesis hold water? *Journal of Experimental Biology*, 207(20), 3591-3602. <https://doi.org/10.1242/jeb.01188>
- Soares, C., Ferreira, S., Ré, P., Teodósio, M. A., Santos, A. M., Batista, H., Baylina, N., & Garrido, S. (2021). Effect of Temperature on the Daily Increment Deposition in the Otoliths of European Sardine *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) Larvae. *Oceans*, 2(4), 723-737. <https://doi.org/10.3390/oceans2040041>
- Souter, T., Cornette, R., Pedraza, J., Hutchinson, J., & Baylac, M. (2010). Two applications of 3D semi-landmark morphometrics implying different template designs : The theropod pelvis and the shrew skull. *Comptes Rendus Palevol*, 9(6-7), 411-422. <https://doi.org/10.1016/j.crpv.2010.09.002>
- Steward, C. A., DeMaria, K. D., & Shenker, J. M. (2009). Using otolith morphometrics to quickly and inexpensively predict age in the gray angelfish (*Pomacanthus arcuatus*). *Fisheries Research*, 99(2), 123-129. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2009.05.011>
- Stipetić, E. (1939). *Huber das gehororgan der Mormyriden*. 741-752.
- Sullivan, G. M., & Feinn, R. (2012). Using Effect Size—Or Why the P Value Is Not Enough. *Journal of Graduate Medical Education*, 4(3), 279-282. <https://doi.org/10.4300/JGME-D-12-00156.1>
- Tavolga, W. N., Popper, A. N., & Fay, R. R. (Éds.). (1981). *Hearing and Sound Communication in Fishes*. Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7186-5>
- The morphology of the swim bladder and auditory bulla in the Holocentridae. (1955). In E. M. Nelson, *Fieldiana : Zoology* (Vol. 37, p. 1-30). Chicago Natural History Museum. <https://www.biodiversitylibrary.org/item/20904>
- Tohse, H., & Mugiya, Y. (2002). Diel variations in carbonate incorporation into otoliths in goldfish. *Journal of Fish Biology*, 61(1), 199-206. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb01746.x>
- Torres, G. J., Lombarte, A., & Morales-Nin, B. (2000a). Sagittal otolith size and shape variability to identify geographical intraspecific differences in three species of the genus *Merluccius*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 80(2), 333-342. <https://doi.org/10.1017/S0025315499001915>
- Torres, G. J., Lombarte, A., & Morales-Nin, B. (2000b). Variability of the sulcus acusticus in the sagittal otolith of the genus *Merluccius* (Merlucciidae). *Fisheries Research*, 46(1-3), 5-13. [https://doi.org/10.1016/S0165-7836\(00\)00128-4](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(00)00128-4)

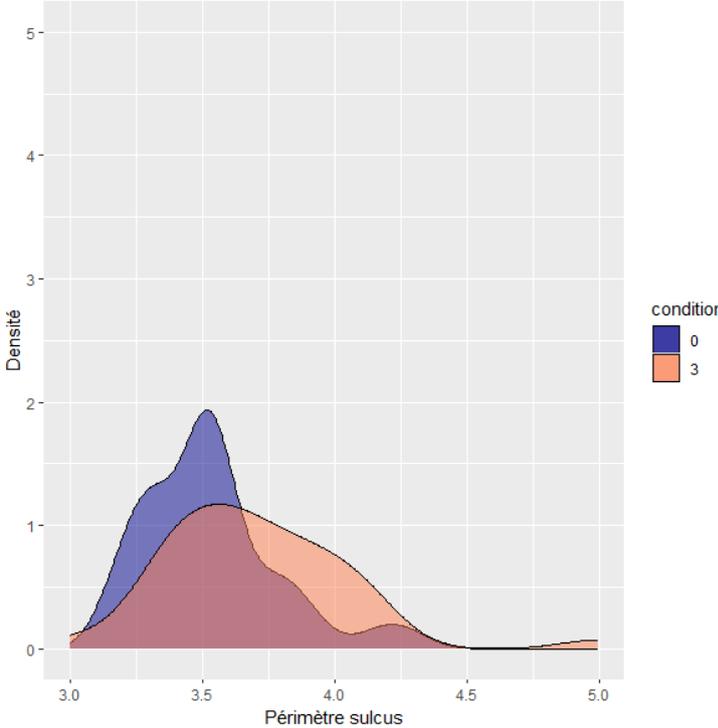
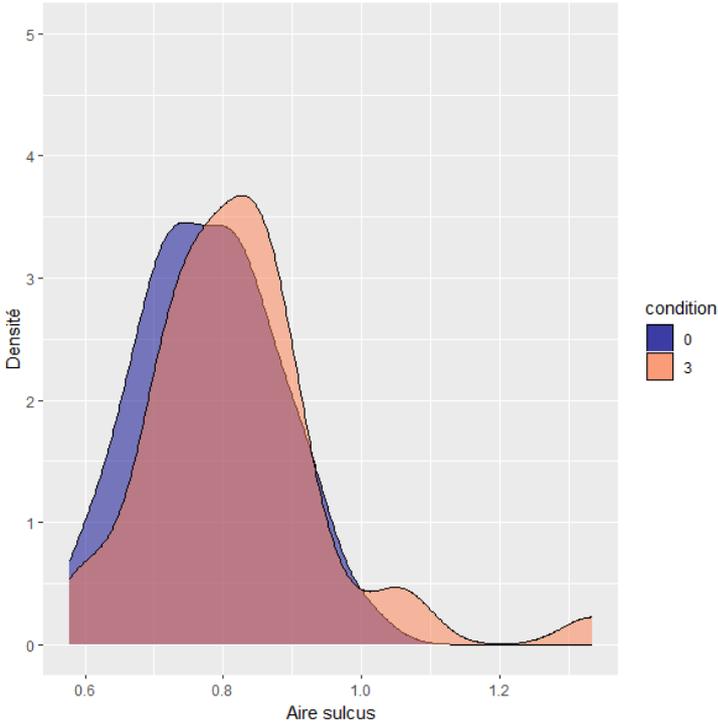
- Tuset, V., Farré, M., Otero-Ferrer, J., Vilar, J., Morales-Nin, B., & Lombarte, A. (2015). Testing otolith morphology for measuring marine fish biodiversity. *Marine and Freshwater Research*, *in press*.
<https://doi.org/10.1071/MF15052>
- Tuset, V. M., Farré, M., Otero-Ferrer, J. L., Vilar, A., Morales-Nin, B., & Lombarte, A. (2016). Testing otolith morphology for measuring marine fish biodiversity. *Marine and Freshwater Research*, *67*(7), 1037. <https://doi.org/10.1071/MF15052>
- Tuset, V. M., Lombarte, A., & Assis, C. A. (2008). Otolith atlas for the western Mediterranean, north and central eastern Atlantic. *SCI. MAR*.
- Tuset, V. M., Lombarte, A., González, J. A., Pertusa, J. F., & Lorente, MaJ. (2003). Comparative morphology of the sagittal otolith in *Serranus* spp. : SAGITTAE ECOMORPHOLOGY IN *SERRANUS* SPP. . *Journal of Fish Biology*, *63*(6), 1491-1504. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2003.00262.x>
- Tuset, V. M., Lozano, I. J., González, J. A., Pertusa, J. F., & García-Díaz, M. M. (2003). Shape indices to identify regional differences in otolith morphology of comber, *Serranus cabrilla* (L., 1758) : Shape indices to identify regional differences in otolith. *Journal of Applied Ichthyology*, *19*(2), 88-93.
<https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2003.00344.x>
- Tuset, V. M., Otero-Ferrer, J. L., Siliprandi, C., Manjabacas, A., Marti-Puig, P., & Lombarte, A. (2021). Paradox of otolith shape indices : Routine but overestimated use. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *78*(6), 681-692. <https://doi.org/10.1139/cjfas-2020-0369>
- Van Damme, A., Lombarte, A., Frederich, B., Betancur-R, R., Efforsyni, F., Schulz-Mirbach, T., Paiva M. de Medeiros, A., Parmentier, E., & Tuset, V. M. (2023, octobre 9). *The diversity of otolith shapes : An ecomorphological study at a large phylogenetic scale*. 7th International Otolith Symposium.
<https://orbi.uliege.be/handle/2268/309165>
- Vignon, M., & Morat, F. (2010). Environmental and genetic determinant of otolith shape revealed by a non-indigenous tropical fish. *Marine Ecology Progress Series*, *411*, 231-241.
<https://doi.org/10.3354/meps08651>
- Volpedo, A. V., Tombari, A. D., & Echeverría, D. D. (2008a). Eco-morphological patterns of the sagitta of Antarctic fish. *Polar Biology*, *31*(5), 635-640. <https://doi.org/10.1007/s00300-007-0400-1>
- Volpedo, A. V., Tombari, A. D., & Echeverría, D. D. (2008b). Eco-morphological patterns of the sagitta of Antarctic fish. *Polar Biology*, *31*(5), 635-640. <https://doi.org/10.1007/s00300-007-0400-1>
- Von Frisch, K. (1938). The Sense of Hearing in Fish*. *Nature*, *141*(3557), 8-11.
<https://doi.org/10.1038/141008a0>

- Weber, E. H. (1820). *De aure et auditu hominis et animalium. Pars I. De aure animalium aquatilium*. Lipsiae [Leipzig] : [B.G. Teubner Apud Gerhardum Fleischerum].
<http://archive.org/details/b22007374>
- Wei, X., & Zhu, G. (2022). Shape and ontogenetic changes in otolith of the ocellated icefish (*Chionodraco rastrospinosus*) from the Bransfield Strait, Antarctic. *Zoology*, 153, 126025.
<https://doi.org/10.1016/j.zool.2022.126025>
- Wootton, R. J. (2012). *Ecology of Teleost Fishes*. Springer Science & Business Media.
- Wright, P. J., Panfili, J., & Morales-Nin. (2002). Types of calcified structures : Otoliths. In *Manual of fish sclerochronology*.
- Wright, P. J., Panfili, J., Morales-Nin, B., & Geffen, A. J. (2002a). Différents types de pièce calcifiée. A/les otolithes. In *Manuel de sclérochronologie des poissons* (J. Panfili, Hd Pontual, H. Troadec&PJ Wright, p. 31-57).
- Wright, P. J., Panfili, J., Morales-Nin, B., & Geffen, A. J. (2002b). *Manual of Fish Sclerochronology : Otoliths*. 31-57.
- Zakharov, V. M., Shadrina, E. G., & Trofimov, I. E. (2020). Fluctuating Asymmetry, Developmental Noise and Developmental Stability : Future Prospects for the Population Developmental Biology Approach. *Symmetry*, 12(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/sym12081376>
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., & Sheets, H. D. (2012a). Introduction. In *Geometric Morphometrics for Biologists* (p. 1-20). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386903-6.00001-0>
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., & Sheets, H. D. (2012b). Landmarks and Semilandmarks. In *Geometric Morphometrics for Biologists* (p. 23-50). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386903-6.00002-2>
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D., & Fink, W. L. (2004). 1—Introduction. In M. L. Zelditch, D. L. Swiderski, H. D. Sheets, & W. L. Fink (Éds.), *Geometric Morphometrics for Biologists* (p. 1-20). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012778460-1/50003-X>
- Zorica, B., Gorenka, S., & Keč, V. (2010). Preliminary data on the study of otolith morphology of five pelagic fish species from the Adriatic Sea (Croatia). *Acta Adriatica*, 51.

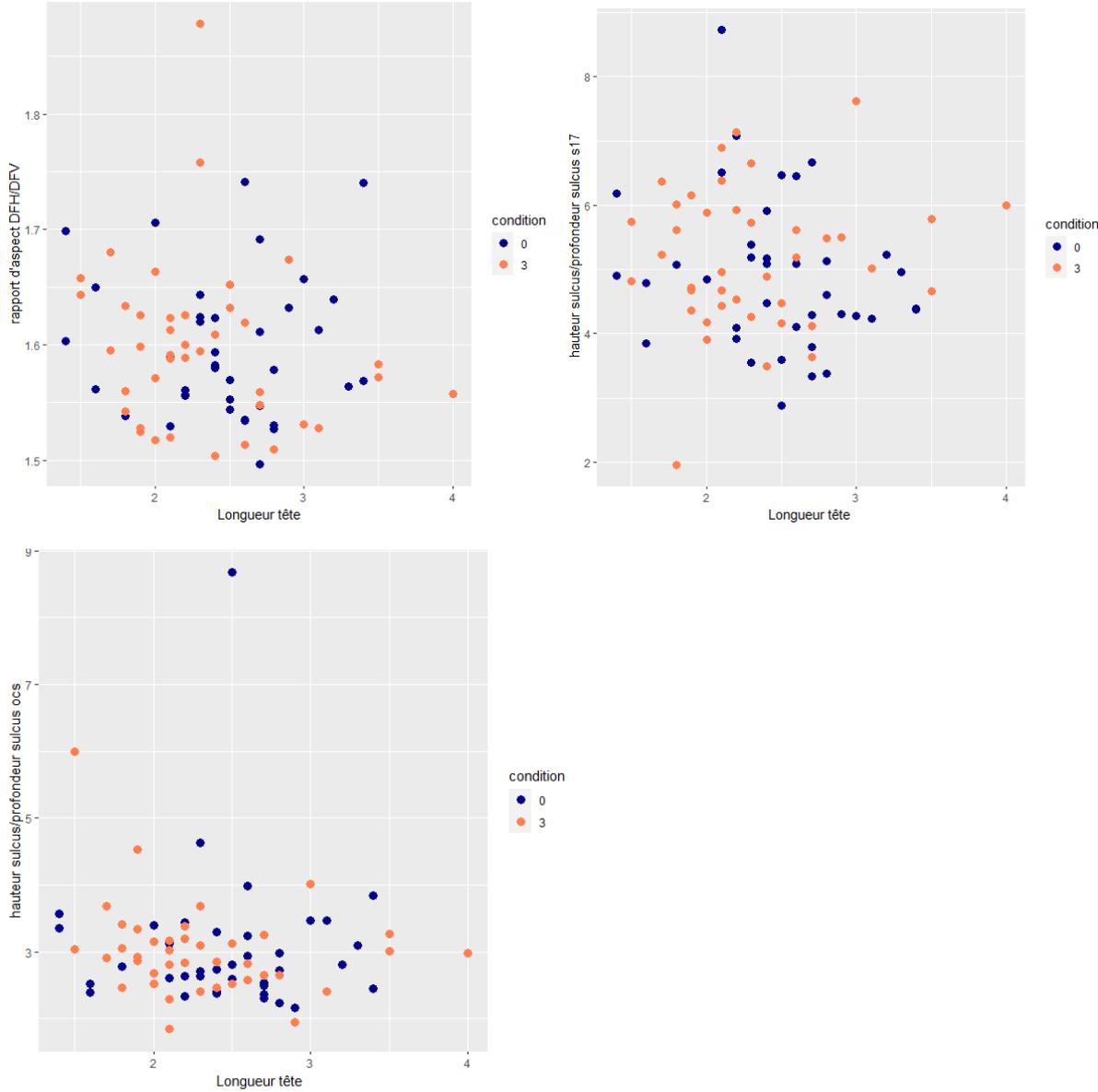
Annexe 1. Graphiques des régression linéaires des variables AS et PS en fonction de la LT.



Annexe 2. Graphiques de densité montrant la répartition des valeurs pour les variables AS et PS selon la condition expérimentale.

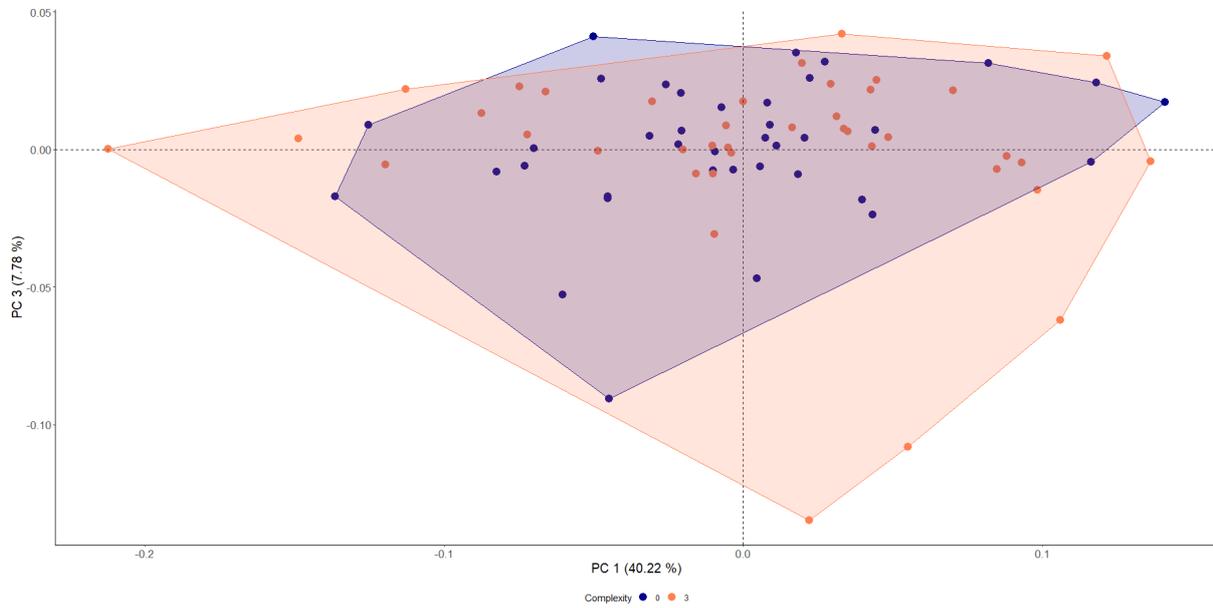


Annexe 3. Graphiques des régression linéaires des indices de forme RA, LS/PrS_{s17} et LS/PrS_{s5}.

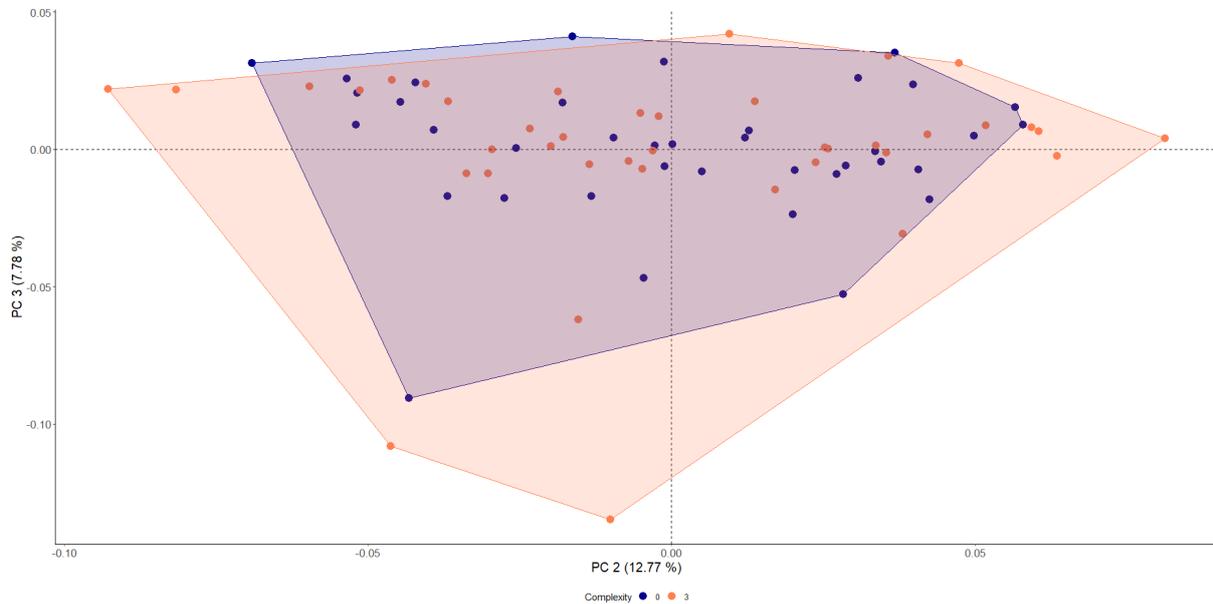


Annexe 4. Géométrie morphométrique classique

Morpho-espace des 78 *sagittae* 3D construits à partir de CP1 et CP3 montrant la condition environnementale dont l'individu est issu.

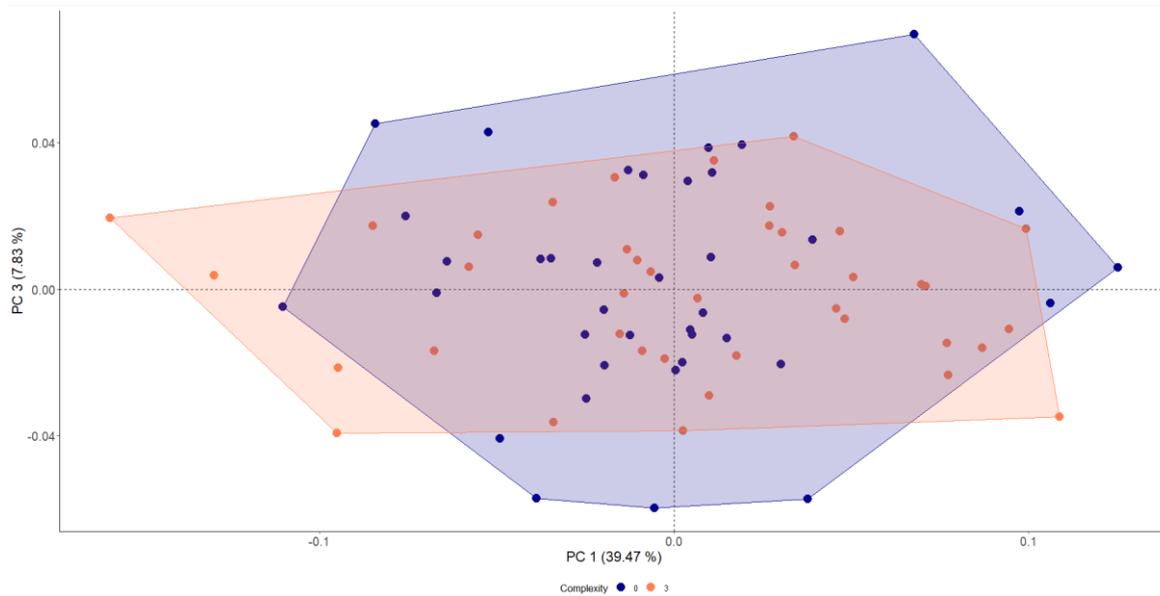


Morpho-espace des 78 *sagittae* 3D construits à partir de CP2 et CP3 montrant la condition environnementale dont l'individu est issu.

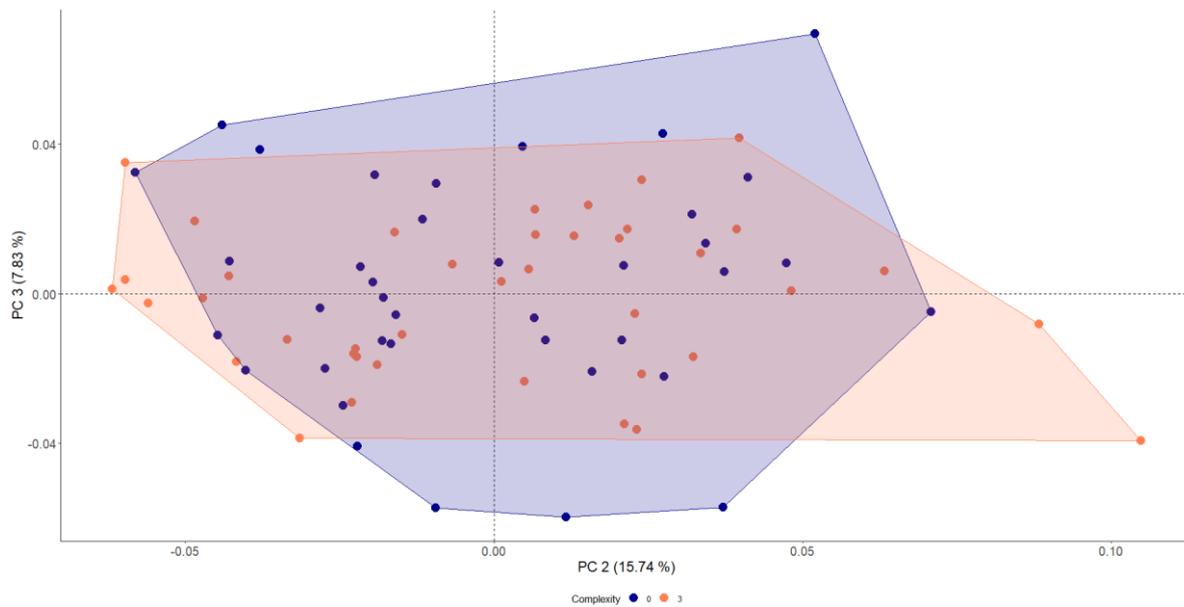


Annexe 5. Géométrie morphométrique de haute densité

Morpho-espace des 78 *sagittae* 3D construits à partir de CP1 et CP3 montrant la condition environnementale dont l'individu est issu.



Morpho-espace des 78 *sagittae* 3D construits à partir de CP2 et CP3 montrant la condition environnementale dont l'individu est issu.



Annexe 6. Photographies de *sagittae* provenant d'individus de grande taille (gauche) et de petite taille (droite) pour illustrer la présence d'irrégularité de contour présente globalement pour les plus grandes *sagittae*.

 <p>LT= 3cm C0_7</p>	 <p>LT = 1,4 cm C0_9</p>
 <p>LT = 3,4 cm C0_12</p>	 <p>LT = 1,4 cm C0_24</p>
 <p>LT = 3,4 cm C0_16</p>	 <p>LT = 1,6 cm C0_36</p>
 <p>LT = 3,5 cm C3_16</p>	 <p>LT = 1,5 cm C3_39</p>