

**La morpho géométrique :****Méthode :**

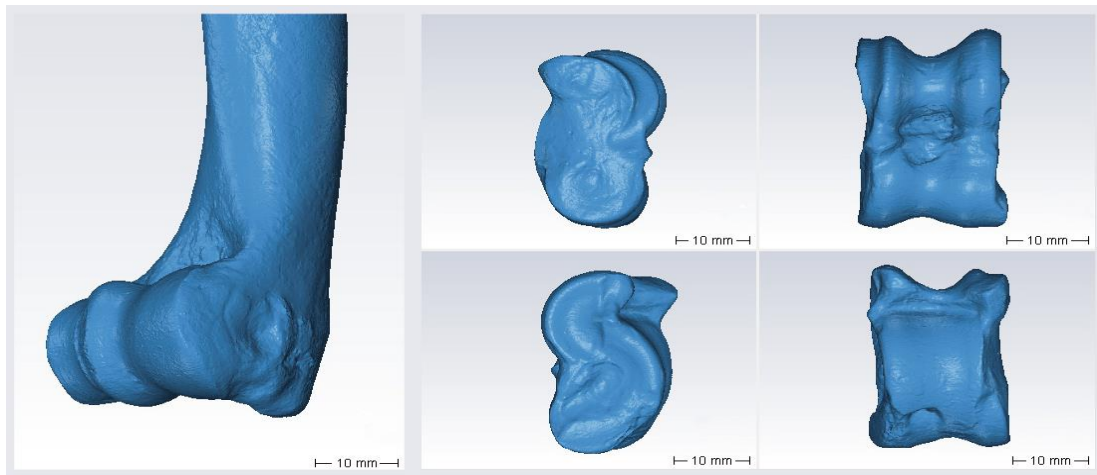
La morphométrie géométrique est une technique d'analyse de plus en plus utilisée en archéozoologie pour distinguer des espèces proches à partir de l'étude de la conformation des éléments du squelette. Cette approche permet d'étudier les variations anatomiques qui existent entre différents taxons en collectant et analysant des données sur la forme des dents ou des os. Elle permet notamment d'étudier l'impact de la domestication sur l'évolution du squelette de certains taxons (e.g. cochon, chien, souris) comparée à la morphologie originelle de leurs ancêtres sauvages (Cucchi et al. 2011 ; Evin et al. 2015, 2013). La conformation géométrique d'un objet correspond à la forme de cet objet indépendamment de sa taille. Elle peut être décrite par des courbes de contours, des surfaces ou des point-repères. Les données sont collectées en deux ou trois dimensions. Pour pouvoir comparer les objets entre eux, les conformations sont alignées en utilisant la technique de la superposition Procruste (Cucchi et al. 2015 ; Rohlf et Marcus 1993). Les objets sont placés dans un même espace de conformation en supprimant les effets de position, taille et orientation, ce qui permet d'obtenir des coordonnées de points comparables.

Bien que l'utilisation d'un scanner pour reconstruire des objets archéologiques en trois dimensions soit devenue courante, cette technique est encore peu appliquée en archéozoologie (Evin et al. 2016). Pourtant, l'analyse d'un objet en 3D permet d'obtenir des informations primordiales pour étudier la morphologie des ossements fauniques. Il est possible de contrôler des paramètres comme le volume, le relief, la densité, la taille, paramètres importants pour étudier la morphologie anatomique à l'échelle inter- et intra-individuelle.

**Matériel :**

Dans le cadre de cette étude, l'acquisition des données s'effectue à partir du scanner Artec Spider à lumière structurée par LED bleues et du logiciel Artec Studio 11 (Matériel mis à disposition par le CEPAM, plateau technique « Relevés 2D et 3D, modélisation et archivage des données »). Léger et compact, ce scanner présente l'avantage d'être facilement transportable. Le protocole d'acquisition, consistant à fixer le scanner sur un pied et à numériser les 4 faces de l'objet positionné sur un plateau tournant, assure une numérisation rapide et uniforme. Dans notre cas, l'étude de la morphologie s'appuie sur la géométrie des

modèles obtenus. Le modèle maillé, non texturé, est reconstruit à une résolution de 0.1 mm à partir des scans.



**Figure 18 :** Modèles 3D obtenus à partir du scanner Artec spider : extrémité distale d'un humérus droit de chèvre (à gauche) et astragale gauche de mouton (à droite).

Notre travail porte sur la numérisation en 3D de deux os du squelette postcrânien : l'humérus et l'astragale. Ces os sont considérés comme de bons marqueurs morphologiques discriminants pour des taxons appartenant à des groupes taxonomiques proches et partageant un gabarit similaire (e.g. Boessneck et al. 1964 ; Fernandez 2001 ; pour les petits ruminants). A terme, ils nous permettront de donner une image du morphosquelette des cheptels domestiques présents au cours de la protohistoire. Cependant, avant de pouvoir étudier les cheptels ovins et caprins protohistoriques, les premières analyses portent sur l'étude de la conformation géométrique de 41 astragales de 4 espèces actuelles de caprinés domestiques et sauvages : le mouton (*Ovis aries*), la chèvre (*Capra hircus*), le mouflon méditerranéen (*Ovis orientalis musimon*) et le chamois (*Rupicapra rupicapra*). Ces pièces anatomiques proviennent des collections du CEPAM, d'Archéorient (antenne de Jalès, collection de Daniel Helmer), du Muséum national d'Histoire Naturelle de Paris (Laboratoire d'Anatomie comparée) et de collections personnelles.

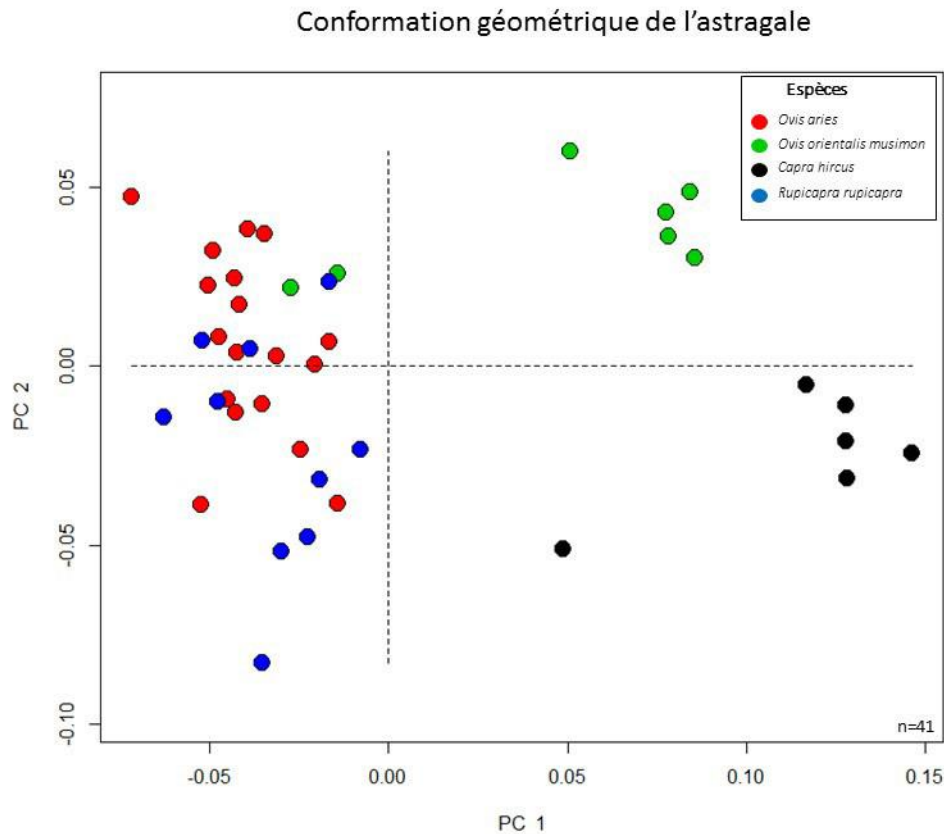
### Extraction des données :

L'analyse de la conformation géométrique est effectuée à partir du logiciel 3DReshaper et de l'environnement statistique R. A ce stade de l'étude, la technique utilisée est celle des points-repères (« landmarks »). Dans une première phase-test, nous avons sélectionné 16 points-repères répartis sur l'ensemble de l'astragale et correspondant pour la

majorité d'entre eux à des intersections de facettes articulaires ou à des éléments anatomiques aisément repérables et dont l'homologie est certaine. Les conformations morphométriques, une fois enregistrées sous un format numérique, sont alignées et superposées grâce à la technique de la superposition Procruste. Cette étape permet de séparer les paramètres de taille et de conformation. L'analyse de la conformation a été réalisée à partir d'une analyse en composante principale (ACP).

**Résultats et perspectives de travail :**

Les résultats de l'analyse en composantes principales, font apparaître plusieurs concentrations de spécimens dont certaines correspondent à des entités taxonomiques relativement homogènes. Ainsi, parmi les valeurs positives de l'axe 1, les astragales de chèvres se distinguent clairement de ceux des autres taxons. On observe également une séparation assez nette entre les astragales de mouflons (à droite) et ceux de moutons (à gauche), à l'exception de deux spécimens. En revanche, on remarque un fort recouvrement entre moutons et chamois, même si les barycentres des deux populations sont disposés de part et d'autre de l'axe 2. Ces premières observations indiquent qu'au moins certains des points-repères sélectionnés sont de bons marqueurs discriminants de la conformation géométrique de l'astragale pour ces espèces voisines. Ces résultats préliminaires nous invitent donc à poursuivre les analyses. Les prochaines étapes de ce travail vont consister à multiplier ou changer les point-repères, étudier les courbes et les surfaces de chaque objet. Par ailleurs, nous avons entrepris d'augmenter le corpus d'étude en enregistrant la conformation 3D des os de plusieurs dizaines d'individus issus de populations actuelles et archéologiques. Les spécimens de référence actuels vont nous permettre, dans le meilleur des cas, de mesurer l'influence des paramètres comme la race (pour les animaux domestiques), le sexe, l'âge d'abattage, les conditions de vie (captivité, semi-liberté, liberté), l'environnement ou l'alimentation.



**Figure 19 :** Résultat de l'analyse en composantes principales montrant la répartition des astragales de caprinés actuels en fonction de leur conformation et de leur appartenance

Méthodes d'étude Identification morphologique des espèces Un préalable à l'étude des caractères morphométriques est l'identification morphologique des tiques récoltées. Cette identification a été faite à l'aide de loupe binoculaire de marque OPTIKA au grossissement 10X et 20X, selon les clés d'identifications dichotomiques de Walker et al. (2003) et Meddour-Boudera & Meddour (2006). La diagnose des genres a été basée sur les caractères morphologiques de certaines parties du corps des tiques (rostre, yeux, festons) et celle des espèces sur certains détails morphologiques (ponctuation du scutum, coloration des pattes, forme des stigmates, forme des plaques adanales, caractères des sillons, des festons, des yeux et la dentition). Ainsi, sur l'ensemble des dix fermes, 2 079 tiques ont-elles été identifiées dont 1721 individus de *R. (B.) microplus*, 309 individus de *Amblyomma variegatum* (Fabricius, 1794), 23 individus de *Hyalomma truncatum* (Koch, 1844), 16 individus de *Hyalomma marginatum rufipes* (Koch, 1844), 6 individus de *Hyalomma impressum* (Koch, 1844), 3 individus de *Rhipicephalus (Boophilus) geigy* (Aeschlimann & Morel, 1965) et 1 individu de *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* (Say, 1821). Pour la présente étude, seule

l'espèce *R. (B.) microplus* a été prise en compte pour la suite du travail. Utilisation de la morphométrie classique Cette étude a été réalisée sur les mâles car les écarts de variations morphologiques chez les femelles peuvent être très grands en fonction de leur état d'engorgement. En effet, les mâles se retrouvent également sur les bovins mais se gorgent moins que les femelles. L'étude des caractères morphométriques traditionnels, c'est-à-dire celle des distances entre points anatomiques (et non la position de ces points les uns par rapport aux autres) a concerné 259 individus (indiv.) mâles de *R. (B.) microplus* dans les proportions : l'axe 1 avec les fermes O3 (29 indiv.), K1 (27 indiv.), F1 (21 indiv.), N4 (25 indiv.), N5 (26 indiv.) et l'axe 2 avec les fermes D3 (30 indiv.), G1 (27 indiv.), G3 (23 indiv.), G8 (26 indiv.). Les paramètres quantitatifs mesurés sur les faces dorsales et ventrales des tiques ont été au nombre de neuf (9) (Tableau 2). Ces mesures ont été réalisées à l'aide d'un microscope digital et d'une caméra vidéo (PCE-MM 200 microscope) à échelle étalonnée. Utilisation de la morphométrie géométrique Sur les mêmes spécimens, des analyses de morphométrie géométrique ont été effectuées en raison de 20 mâles par ferme, soit un total de 200 individus. Cette approche moderne utilise les coordonnées des points anatomiques dans un système d'axes « x y », plutôt que les distances entre ces points, pour dégager des informations concernant la taille mais aussi et surtout la forme des individus. Montage et numérisation des tiques Le montage a consisté à positionner un spécimen de tique sur du papier millimétré. Pour la numérisation, la résolution (1600 ppp) aux dimensions (0,30 cm de longueur et 0,25 cm de largeur) a été retenue pour tous les échantillons sélectionnés. Elle a consisté à prendre en image chaque spécimen de tique montée à l'aide d'un microscope numérique (PCE-MM 200 microscope) reliée à un ordinateur et à échelle étalonnée. La numérisation a été réalisée par un seul et même opérateur. Cette pratique vise à réduire toute erreur instrumentale telle que relevée par Muñoz-Muñoz et Perpiñan (2010). L'image de chaque tique a été enregistrée sous le format de fichier image JPEG.

Collection des points repères ou digitalisation A l'aide d'un ordinateur muni du logiciel CLIC (disponible gratuitement sous licence GPL <http://mom-clic.com>) (Dujardin & Slice, 2007; Dujardin et al., 2010), une digitalisation des point-repères (PR ou "landmarks") a été faite sur chacune des images de tique réalisées lors de la numérisation. Elle a consisté à positionner sur chaque image, des "landmarks" sur des structures anatomiques potentiellement sujettes à des changements micro-évolutifs (membres articulés, gonopore, anus), et toujours dans le même ordre. La digitalisation a été réalisée par un seul et même opérateur. Cette digitalisation s'est opérée à l'aide du module COO ("Collection of Coordinates") du logiciel

CLIC. Les coordonnées x et y de chaque point sont placées automatiquement dans un système d'axes et enregistrées dans un fichier externe. Pour chaque individu, seize (16) point-repères (PR) ont été digitalisés, dans le même ordre, de 1 à 16 et la liaison de l'ensemble de ces landmarks forme un polygone ou configuration de landmarks qui permettra d'obtenir les variables de forme après superposition de chaque configuration individuelle (Figure 2). Cette procédure, réalisée à partir du module MOG du logiciel CLIC et appelée « superposition de Procrustes ». Elle nécessite plusieurs étapes de mises à l'échelle, de translation et de rotation afin que chaque configuration puisse être comparée aux autres. Elle génère des coordonnées résiduelles qui contiennent les informations relatives à la forme : les « partial warps » (PW), ou les « relative warps » (RW) qui sont les composantes principales des PW (Perrard, 2012). Ce sont ces variables qui peuvent ensuite être utilisées dans les comparaisons multivariées (ACP, AD) grâce aux modules VAR, COV et PAD du logiciel CLIC. Par ailleurs, la « superposition de Procruste » permet de dégager une estimation globale de la taille de chaque individu, appelée taille « centroïde » car son calcul se fait à partir du point centroïde (moyen) de chaque configuration. La taille centroïde est l'estimateur géométrique de la taille globale de chaque individu. Elle est utilisée pour décrire les différences de taille entre population.

Arbre de distance Les méthodes des distances (distances Euclidiennes entre composantes principales de la forme) se proposent de reconstruire des arbres en partant des ressemblances observées entre chaque paire d'unité évolutive. L'arbre traduit le degré de similarité sans nécessairement tenter de refléter l'évolution moléculaire sous-jacente (l'histoire) des phénotypes observés. Mais il est probable que plus la ressemblance globale entre deux unités est importante, plus leurs liens de parenté sont étroits. Un arbre de distance basé sur la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) a été construit pour chaque type d'analyse morphométrique en utilisant les commandes R générées par le module COV, exécutées ensuite dans l'interface du logiciel R.

Analyse statistique Le traitement statistique des données issues des mesures des distances entre points anatomiques a été réalisé à l'aide du logiciel SPSS statistics pour Windows, (version 20). Le test statistique ANOVA (Analysis Of Variance) a été utilisé pour tester la signification statistique des différences observées entre les moyennes de chaque paramètre au sein et entre les deux axes, complétés avec des tests post-hoc de Duncan. Une Analyse en Composantes Principales (ACP) a permis de simplifier les variables et de visualiser la distribution des individus en fonction de leur provenance dans un espace graphique (carte factorielle) et la Classification Ascendante Hiérarchique (CAH). Ces analyses centrées sur la forme ont été réalisées selon l'approche de Mosimann (Mosimann, 1970; Darroch & Mosimann, 1985) :  $S = X/G$ , où S représente la forme (S pour «

shape »),  $X$  chacun des individus et  $G$  l'estimateur global de la taille, défini comme la moyenne géométrique d'un individu. Cette méthode, qui s'applique à un ensemble de mesures entre des points anatomiques, permet de calculer une taille globale et, séparément, une estimation globale de la variabilité de forme. Le logiciel CLIC a été utilisé pour le traitement statistique des données sur la morphométrie géométrique. Ce logiciel regroupe plusieurs modules. Le module COO, a été utilisé pour la digitalisation des images, le module TET pour modifier les données, le module MOG pour assurer la superposition de Procrustes et sa visualisation graphique, et divers autres modules (VAR, PAD, COV) pour faire les analyses multivariées des coordonnées transformées. Pour les deux analyses, l'arbre UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) a été construit en utilisant les commandes R générées par le module COV, exécutées ensuite dans l'interface du logiciel R.



**Figure 20 :** Digitalisation des 16 points repères sur la face ventrale de la tique R. (B.) microplus.

Les points-repères La géométrie d'un objet peut être quantifiée de plusieurs façons, notamment à l'aide de courbes de contours ou de surfaces (Adams et al., 2004), mais seule la

méthode des points repères (« landmarks » en anglais) sera utilisée au cours de cette thèse. Cette méthode consiste à analyser les coordonnées relatives de points repères pour capturer la géométrie de l'objet. Une définition correcte de ces points est indispensable pour légitimer la comparaison des conformations de différents objets biologiques. Les points repères doivent être définis au préalable sur des éléments précis et homologues des structures biologiques. En effet dans le cadre de la théorie de l'évolution, les seuls éléments comparables entre différents organismes sont des éléments homologues, c'est à dire des éléments hérités d'un ancêtre commun et qui sont donc susceptibles de traduire l'histoire évolutive des organismes qui les portent. Bookstein (1991) distingue ainsi 3 catégories de points repères : - les points repères de type I qui sont définis à des intersections entre différents tissus biologiques et dont l'homologie n'est pas mise en question par la variation de la conformation. - les points repères de type II qui ne sont pas définis par une interaction entre plusieurs tissus, mais comme une extrémité d'un même tissu, tel qu'un maximum de courbure. Ces points repères ont une homologie discutable - les points repères de type III qui ne sont pas définis par des éléments structurels précis et proches, mais par leur position relative par rapport à un élément éloigné. Ils sont aussi souvent situés à des maxima de courbures. S'ils peuvent s'avérer utiles pour la description de la forme, l'homologie de ces points repères est encore moins évidente que celle des points de type II.

La conformation d'un objet étant définie par la position relative des points repères qui la composent, il est préférable de maximiser le nombre de points repères de type I de façon à optimiser la comparaison avec d'autres conformations de structures similaires.

L'alignement des conformations Les conformations étant définies par des coordonnées relatives entre les différents points repères, elles doivent être placées dans un même référentiel avant de pouvoir être comparées. La technique pour uniformiser le référentiel de différentes conformations permet, en pratique, de sortir du référentiel arbitraire qui a servi à la prise des mesures en alignant les conformations entre-elles. Cette uniformisation du référentiel, ou alignement, modifie l'information contenue dans les coordonnées brutes en retirant la position, la taille et l'orientation de la forme mesurée. Ces transformations n'affectent en rien la conformation qui est indépendante de ces facteurs. Il existe différentes méthodes d'alignement, mais la méthode utilisée au cours de cette thèse est la superposition Procruste (« Generalized Least-Squares Procrustes superimposition » ou « GLS » ; Fig. 0.3). J'ai utilisé cette méthode car c'est l'unique méthode d'alignement qui soit en accord avec la théorie des



conformations présentée précédemment (Zelditch et al., 2004). La superposition Procruste partielle suit trois étapes principales de transformation des coordonnées brutes : 1 – centrage de toutes les conformations par translation, de façon à aligner leur centre de gravité, appelé « centroïde » (Fig. 18) ; 2 – mise à l'échelle des conformations en utilisant la « taille centroïde » comme unité de taille de chaque conformation. La taille centroïde est une mesure de la dispersion des points repères de la conformation par rapport au centroïde (Fig. 19). Elle correspond à la racine de la somme des carrés des distances entre chaque point-repère et le centroïde. La mise à l'échelle se fait en divisant chaque coordonnée par la taille centroïde de la conformation ; 3 – alignement des différentes conformations par rotation de façon à minimiser le critère d'alignement (Fig. 21).

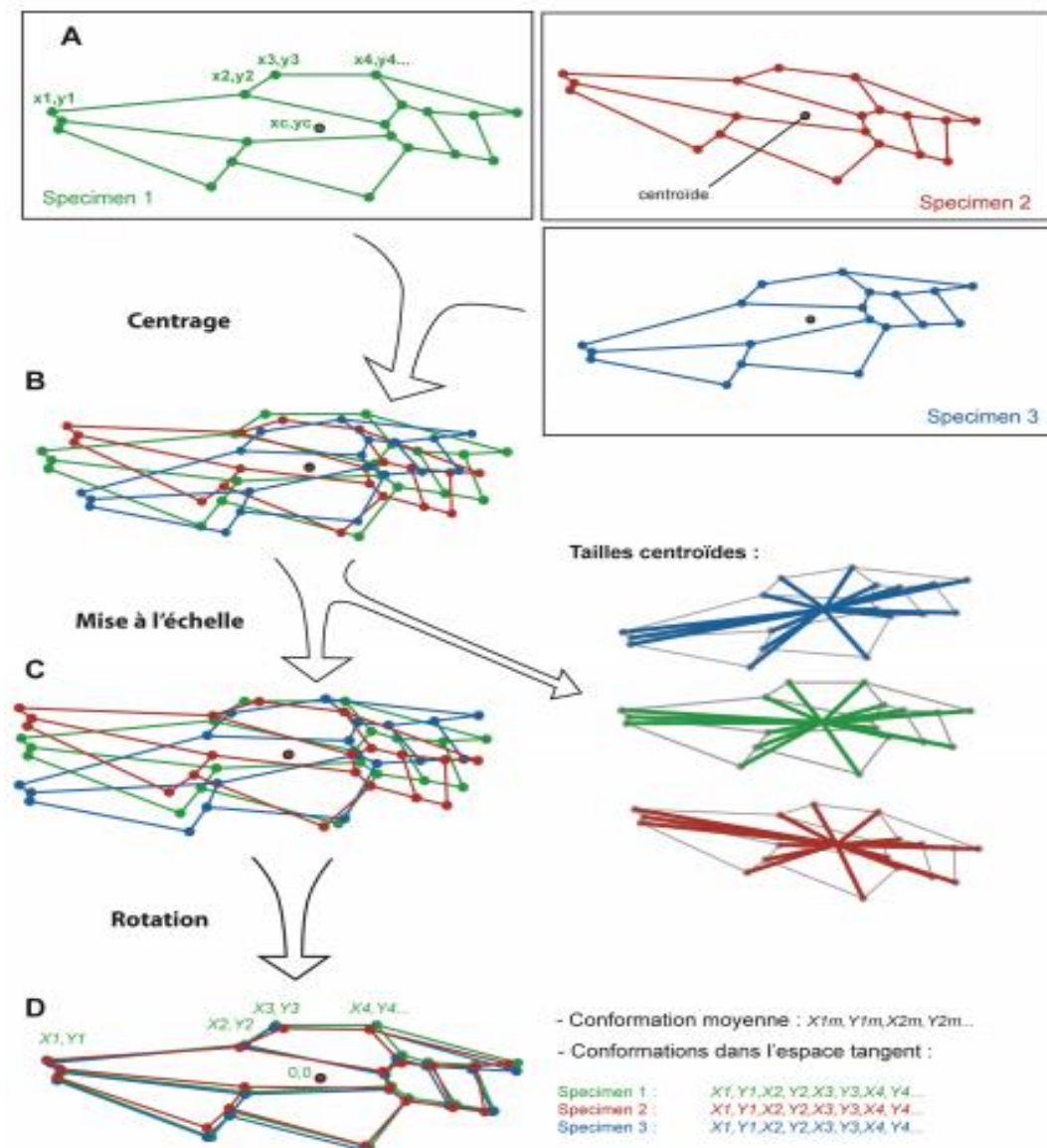


Figure 21 : Alignement des coordonnées brutes par la méthode des GLS.

A. Coordonnées brutes relevées sur les photographies de 3 spécimens. B. Coordonnées centrées en soustrayant les coordonnées du centroïde ( $x_c, y_c$ ) : perte de 2 dimensions. C. Conformations normalisées en divisant les coordonnées par la taille centroïde : perte d'une dimension. La taille centroïde de chaque conformation est conservée pour estimer la taille de l'aile. D. Rotation uniforme des coordonnées autour du centroïde de manière à minimiser la distance des moindres carrés entre les différentes coordonnées : perte d'une dimension. Au final, les coordonnées récupérées sont les variables de la projection dans l'espace tangent, avec la conformation moyenne comme point tangent avec le shape-space.