



HAL
open science

Identification et délimitation des populations de poissons du réseau fluvial. Méthodes d'étude

Yvette Bouvet, Gilles Monod, Hervé Morandi, Eric Pattee, Henri Persat

► To cite this version:

Yvette Bouvet, Gilles Monod, Hervé Morandi, Eric Pattee, Henri Persat. Identification et délimitation des populations de poissons du réseau fluvial. Méthodes d'étude. Colloque National du C.N.R.S. Biologie des populations, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS). FRA., Sep 1986, Lyon, France. hal-01600899

HAL Id: hal-01600899

<https://hal.science/hal-01600899>

Submitted on 4 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - ShareAlike 4.0 International License

IDENTIFICATION ET DELIMITATION DES POPULATIONS DE POISSONS DU RESEAU FLUVIAL. METHODES D'ETUDE (1)

Y. BOUVET, G. MONOD, H. MORANDI, E. PATTEE et H. PERSAT

Summary

Three species of fish (nase, roach, grayling) were sampled in the network of the river Rhone upstream from the city of Lyon and were studied by three different methods: analysis of their morphologic and enzymatic polymorphism, of their biotransformation enzyme systems, of their parasites acting as biological tags. The results will make it possible to compare the discriminating capacity of each method in identifying the populations of the different niches of the river network.

Introduction

Les ressources ichtyologiques des grands réseaux fluviaux subissent les modifications imposées à leur environnement (modification physique du cours des fleuves, modifications chimiques de l'eau, modifications biologiques des peuplements).

Cette situation nécessite une étude approfondie des poissons, afin de faire le point de l'état actuel, de comparer avec ce qui existait dans les décennies antérieures et de prévoir leur évolution sous la pression de l'aménagement de leur environnement.

Cependant, l'étude de la biologie des populations de poissons, et plus particulièrement de leur démographie dans l'hydrosystème fluvial, se heurte à un obstacle important: la difficulté d'identifier les populations, leurs limites et interrelations. Il paraît donc indispensable de commencer par une étude de leur identification et de leur délimitation.

Nous appliquons trois approches, dont il sera nécessaire de comparer les performances (fiabilité, précision, fidélité):

- analyse du polymorphisme biochimique enzymatique et morphologique,
- analyse des activités enzymatiques de biotransformation,
- analyse des parasites, utilisés comme marqueurs biologiques.

La pratique de ces analyses est conduite en parallèle sur les mêmes individus appartenant à trois espèces (*Thymallus thymallus*, *Rutilus rutilus*, *Chondrostoma nasus*), ce qui permettra de comparer la puissance discriminante de chacune de ces approches.

Les poissons sont pêchés en différents points du réseau fluvial: sur le Rhône lui-même au Pont de Lucey et à l'aval du confluent de l'Ain, sur le canal de Miribel (l'un des bras du Rhône juste en amont de Lyon), ainsi que sur les affluents directs le Séran et l'Ain, et indirects le Suran à Pont d'Ain, la Loue et la Bienne. Ces échantillons sont traités sur place: caractères morphométriques et sexe notés, écailles prélevées pour évaluation ultérieure de l'âge. Nous prélevons sur le terrain les organes destinés aux analyses et conservés selon deux méthodes, en fonction de leur utilisation ultérieure; muscles, foie, reins, coeur, cristallin sont congelés dans l'azote liquide pour permettre la recherche, en laboratoire, du polymorphisme enzymatique et des activités de biotransformation, tandis que la tête et les viscères sont immergés dans du formol à 10 % afin de préserver les parasites pour leur identification et leur dénombrement.

(1) Etude soutenue par l'A.T.P. CNRS " Biologie des populations" et le P.I.R.E.N "Maîtrise des ressources ichtyologiques"

Premiers résultats

Analyse des polymorphismes morphométrique et électrophorétique

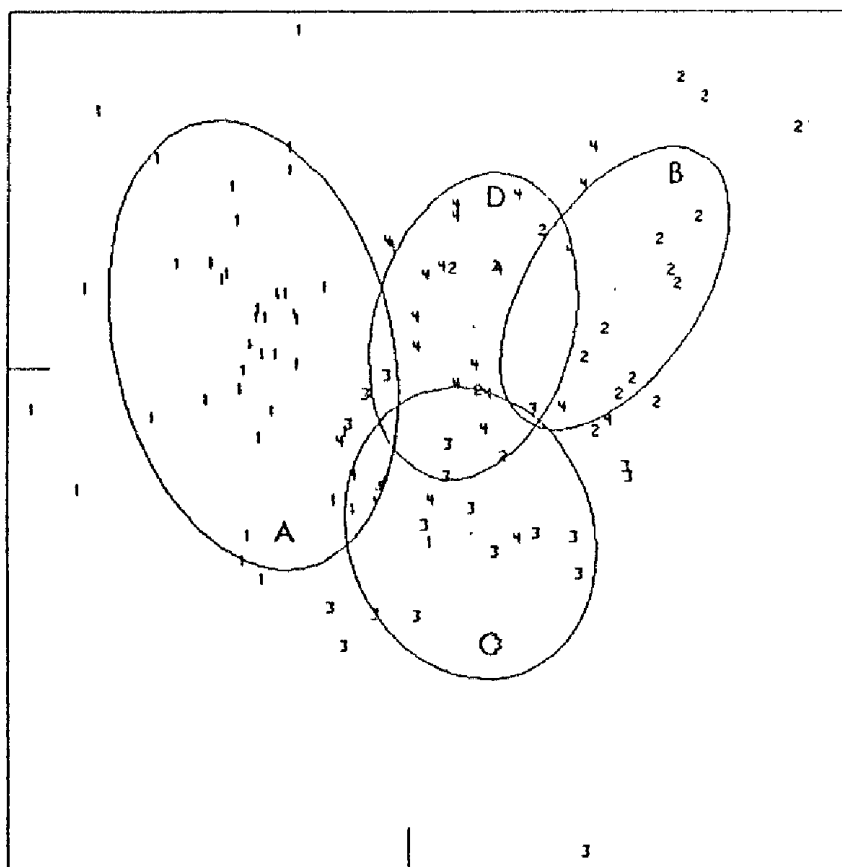
(Persat et al., 1986).

A la suite du réchauffement post-glaciaire, l'aire de répartition de l'Ombre commun (*Thymallus thymallus*) du bassin du Rhône s'est restreinte aux seules portions de cours d'eau offrant des conditions de milieu favorables à l'espèce: eaux fraîches bien oxygénées, à débit suffisant et coulant sur des gravières non colmatées.

Ainsi se sont constitués des sous-ensembles, entre lesquels les possibilités de transfert peuvent être considérées comme nulles pour cette espèce, en raison de ses exigences écologiques strictes. Sur cette structure initiale, l'action anthropique entraîne un cloisonnement accru du milieu. Ce cloisonnement de l'aire de répartition de l'espèce, tant naturel qu'artificiel, pose le problème du développement éventuel des sous-populations propres à chacune des unités géographiques.

Une première approche a été réalisée sur quatre populations d'Ombre commun recouvrant deux types de partition, l'une ancienne (antérieure à 1900) entre la Loue et le bassin de l'Ain, l'autre récente (postérieure à 1900) à l'intérieur de ce dernier (Ain amont, Bienne, Ain aval).

L'étude morphométrique des poissons de ces quatre unités fait apparaître une certaine différenciation morphologique, (Surre et al., sous presse) (fig.1a). Ce résultat nous autorise à rechercher une éventuelle différenciation génétique par l'étude du polymorphisme électrophorétique (technique de l'électrophorèse sur gel d'amidon).



- A- Sous-population de l'Ain amont composée des individus 1
- B- Sous-population de la Bienne (Individus 2)
- C- Sous-population de la Loue (individus 3)
- D- Sous-population de l'Ain aval (individus 4)

Figure 1a: Différenciation de quatre sous-populations d'Ombre commun par analyse discriminante (102 individus, 20 variables morphométriques).

Onze loci polymorphes (6 PGDH-1, AGP-1, PGM-1, PGM-3, LDH-1, LDH-2, LDH-3, AAT-1, AAT-2, PMI-1, PMI-2) permettent de définir les degrés de polymorphisme et d'hétérozygotie des quatre populations étudiées (tabl.1), dont les distances génétiques (Nei, 1974) sont représentées dans la fig.1b. On retrouve ainsi des valeurs semblables à celles déterminées par Lynch et Vyse (1979) sur quatre populations d'une espèce voisine: *T. articus*.

Ces premiers résultats permettent la caractérisation génétique des sous-populations, dont il faudra comparer l'identification avec celle obtenue par les deux autres approches.

Tableau 1: Systèmes enzymatiques analysés, tissus analysés et tampons utilisés

Système	Nombre de locus	Déterminisme génétique	Tissus	Tampon
LDH(Lactate déshydrogénase)	4	Ldh1,Ldh2,Lh3,Ldh4	M,F,C	T.C 6,7
MDH(Malate déshydrogénase)	4	Mdh1,Mdh2,Mdh3,Mdh4	M,F,C,Oe	T.C 6,7
IDH(Isocitrate déshydrogénase)	3	ldh1,ldh2,ldh3	M,F,C,Oe	T.C 6,7
ADH(Alcool déshydrogénase)	1	Adh1	F	T.C 8,0
SDH(Sorbitol déshydrogénase)	3	Sdh1,Sdh2,Sdh3	F	T.C 6,7
XDH(Xanthine déshydrogénase)	1	Xdh1	F	T.C 6,7
6PGDH(6Phosphogluconate déshydrogénase)	2	6Pgdh1,6Pgdh2	M,F,C	T.C 8,0
AGP (Glycérophosphate déshydrogénase)	3	Agp1,Agp2,Agp3	M,F	T.C 8,0
PGI(Phosphoglucose isomérase)	4	Pgi1,Pgi2,Pgi3,Pgi4	M,F,C	TCB 8,7
PGM(Phosphoglucomutase)	3	Pgm1,Pgm2,Pgm3	M,F,C	T.C 8,0
PMI(Phosphomannose isomérase)	2	Pmi1,Pmi2	M,F	T.C 6,7
AAT(Aspartate amino transférase)	4	Aat1,Aat2,Aat3,Aat4	M,F,C	T.C 8,0
CPK(Créatine phosphokinase)	1	Cpk1	M,F,C	T.C 6,7
EST(Estérase)	3	Est1,Est2,Est3	M,F,C	THcl 8,5
ME(Enzyme malique)	3	Me1,Me2,Me3	M,F,C,Oe	T.C 8,0
XLD(Xylose déshydrogénase)	1	Xld1	F	T.C 8,0
GLO(Glyoxalase)	1	Glo1	M,F	TBE 8,6
SOD(Superoxyde dismutase)	1	Sod1	F	T.C 6,7

M = Muscle, F = Foie, C = Coeur, Oe = Oeil

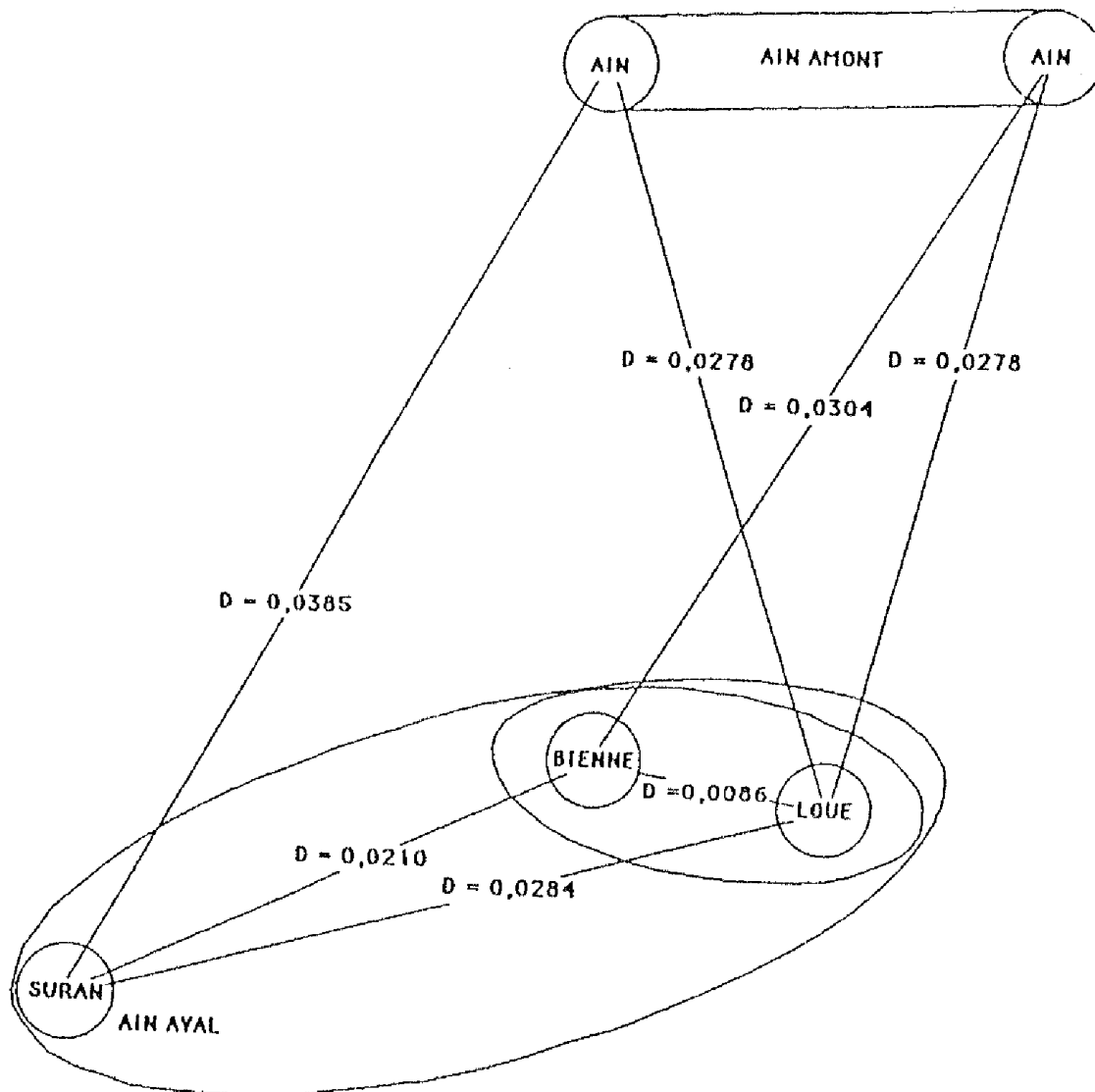


Figure 1b: Distances génétiques (D) entre les sous-populations d'Ombres de différentes stations (Cf. fig 1A)

Analyse des activités hépatiques de biotransformation (Monod et al., 1986).

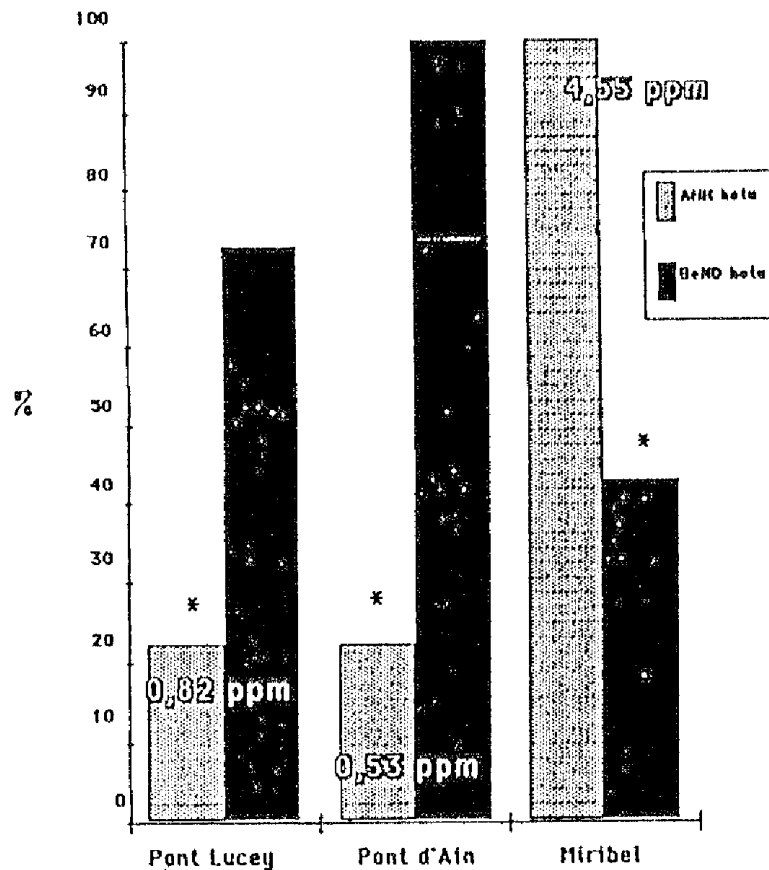
Notre approche s'intéresse aux activités enzymatiques de biotransformation impliquées dans le métabolisme des xénobiotiques. Nous suivons particulièrement l'activité du système des monooxygénases cytochrome P450 dépendantes qui réalisent l'oxydation des xénobiotiques lipophiles, facilitant ainsi leur élimination par l'organisme.

Les activités monooxygénases sont révélées *in vitro* à l'aide de substrats modèles. Certaines ont tendance à augmenter lorsque le poisson a été contaminé par des polluants tels que les polychlorobiphényles (PCB) ou les hydrocarbures polyaromatiques: c'est le phénomène d'induction enzymatique. De ce fait, les monooxygénases ont été proposées comme indicateurs de l'intégration par le poisson des modifications chimiques du milieu (Kezic et al., 1983; Payne, 1984). La température de l'eau, mais aussi des facteurs internes (période du cycle physiologique, génétique) peuvent moduler les activités des monooxygénases (Koivusaari et al., 1984; Lindström-Seppa, 1985).

L'étude en cours de réalisation dans différentes stations du Haut-Rhône laisse apparaître des premiers résultats allant dans ce sens. En effet, les Hotus originaires du canal de Miribel possèdent une activité arylhydrocarbure hydroxylase (AHH) significativement plus

élevée que celle des individus pêchés en amont (fig. 2). Ce résultat provient sans doute de la différence importante de teneur en PCB entre les poissons du secteur de Miribel et les autres. Des résultats similaires ont été obtenus avec l'Ombre et le Gardon.

La benzphétamine N-déméthylase (BeND), non inductible chez le poisson, montre un profil très différent de celui de l'AHH. Dans ce cas, les variations observées pourraient révéler des différences dépendant intrinsèquement des groupes étudiés et non pas de la contamination du milieu (Elcombe et al., 1979).



* : activité significativement plus faible que l'activité maximale.

Figure 2: Comparaison interstations des activités Arylhydrocarbure hydrolase (AHH) et Benzphétamine N-déméthylase (BeND) chez le hotu. Les teneurs en PCB apparaissent en surimpression.

A ce stade de notre travail, au moins deux aspects nous paraissent intéressants:

- En étudiant les activités de biotransformation, nous dépassons le suivi de polluants pour nous placer au niveau des effets biochimiques qu'ils induisent. Néanmoins les conséquences toxicologiques qui pourraient en découler restent en grande partie à examiner (Lech et Bend, 1980).
- Un deuxième aspect est la possibilité, à l'aide des mesures que nous effectuons, de caractériser des groupes géographiquement séparés de poissons de même espèce. C'est une caractérisation écotoxicologique, au sens où elle dépend étroitement des facteurs du milieu (pollution, température) et des facteurs intrinsèques aux espèces (génétique, physiologie).

L'étude se poursuit pour vérifier si les résultats présentés ci-dessus se retrouvent en d'autres saisons. Par ailleurs, il conviendrait d'affiner nos résultats afin de dégager (si elles existent) les influences liées au sexe et à l'âge des individus. Un suivi mensuel dans une

des stations étudiées devra également être envisagé durant une année, pour suivre le profil de variation des activités monooxygénases, tout en recherchant les facteurs permettant de l'expliquer.

Pour ces études à venir, seul un échantillonnage suffisant nous permettra d'approcher la réalité des phénomènes.

Analyse de la parasitofaune branchiale des Hotus (Morandi, 1986)

Principe: L'équilibre existant entre un poisson et sa parasitofaune est le résultat de l'action de nombreux facteurs que l'on peut rattacher aux trois pôles indiqués dans la fig. 3.

Dans cet équilibre, l'hôte intervient en partie par sa réponse immunitaire, à laquelle est lié le concept de spécificité parasitaire. On peut alors envisager l'identification de populations ou groupes génétiquement distincts par l'étude de leur parasitofaune, celle-ci jouant en quelque sorte le rôle d'amplificateur: c'est le *marquage* biologique de type *phylogénique*.

Parmi les facteurs exogènes, le milieu joue un rôle déterminant. Facteurs biotiques (présence dans le milieu des hôtes intermédiaires des cycles parasites) et facteurs abiotiques (vitesse du courant, température...) vont contribuer à l'installation d'une parasitofaune réalisant ainsi un *marquage écologique*.

Cet équilibre de type multifactoriel pose d'importants problèmes méthodologiques, dès lors que l'on souhaite mettre en évidence un marquage biologique, et particulièrement pour distinguer marquage écologique et marquage phylogénique.

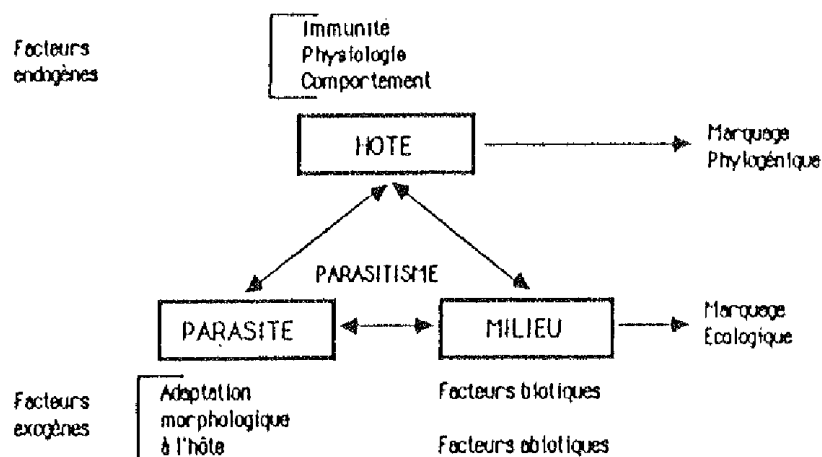


Figure 3: Le complexe "milieu-hôte-parasite" et les facteurs impliqués.

Choix du matériel et méthodes: Les Monogènes Monopisthocotylea Dactylogyridae parasites du Hotu (*Chondrostoma nasus*) constituent un groupe faunistique intéressant:

- par leur cycle monoxène indépendant des facteurs biotiques de l'environnement,
- par leur biologie d'ectoparasites branchiaux, non soumis au régime alimentaire de l'hôte et relativement protégés des agressions physiques du milieu extérieur.

Ainsi le choix de ce matériel est une garantie de limitation des paramètres pouvant induire un marquage écologique, sans toutefois le supprimer.

Par ailleurs, les Monogènes sont l'objet d'une grande spécificité parasitaire (Euzet et Combes, 1980). Suivant le spectre de répartition d'une espèce de parasite, les auteurs déterminent des spécificités parasitaires plus ou moins larges de types *oioxène* ou *sténioxène*, réalisant respectivement un marquage spécifique ou générique. Des marquages d'hybrides sont alors possibles (Lambert et Romand, 1984). Ces travaux, reposant sur une étude qualitative des différentes espèces de parasites, nous ont permis d'envisager une approche complémentaire de la structure des parasitofaunes en présence. Notre travail porte alors:

- sur la présence ou l'absence de certaines espèces de Monogènes,
- sur la fréquence relative des différentes espèces de Monogènes,
- sur la variabilité des caractéristiques morphométriques dans une même espèce de parasite entre différentes stations.

Cette analyse fine des populations de parasites branchiaux nous a permis, directement et indirectement, de caractériser une population de Hotu sur une station de référence du Haut-Rhône français (Miribel) et d'amorcer une comparaison avec une autre station de la rivière Ain (Pont d'Ain), pour laquelle l'échantillonnage est encore de taille statistiquement insuffisante.

Notre étude porte sur les quatre espèces congénères du genre *Dactylogyrus* décrites chez le Hotu (Lambert, 1977): *D. chondrostomi*, *D. ergensi*, *D. dirigerus* et *D. vistulae* (fig.4).

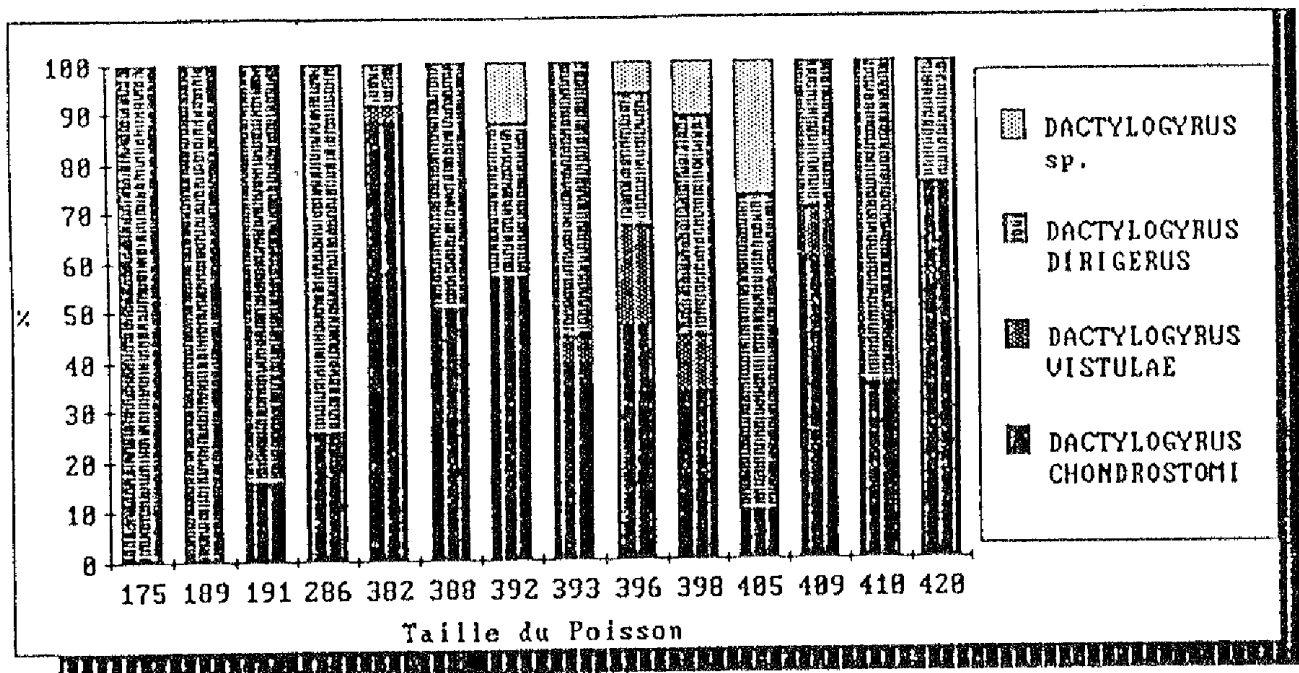


Figure 4: Station de Miribel: Fréquence relative des espèces de Monogènes parasites du Hotu.

Nous avons observé sur la station de Miribel une espèce nouvelle, que la structure articulée des hamulis rapproche du genre *Pseudodactylogyrus*. Cette espèce, non signalée par Lambert, et non encore retrouvée sur la station de Pont d'Ain, constitue un élément de distinction. On ne peut cependant pas conclure quant au type de marquage: phylogénique (peu probable) ou écologique, dont l'origine serait à déterminer (qualité des eaux, introduction avec des espèces de poissons de repeuplement).

Si notre objectif est de caractériser des populations de Hotu génétiquement distinctes entre différents points géographiques ou de mettre en évidence des marquages de type écologique, il n'est pas moins intéressant de remarquer la variabilité qui existe sur une même station entre les individus de moins de 200 mm et les autres. Cette variabilité porte sur la fréquence relative des différentes espèces de monogènes et notamment sur la dominance de *D. dirigerus* chez les jeunes. Le marquage identifie ici le groupe des juvéniles, dont le système immunitaire est probablement immature (Oliver, 1982).

Perspectives: Dans l'avenir, l'approche morphométrique des populations de monogènes branchiaux, réalisée sur la taille des hamulis, pourrait permettre une caractérisation indirecte des populations de poissons hôtes. On connaît la variabilité de la taille de l'appareil haptorial chez les monogènes, qui rend difficile l'utilisation de ce caractère pour la diagnose

spécifique. Cependant, sur la station de référence (Miribel) et pour les espèces *D. dirigerus* et *D. chondrostomi*, cette variabilité de la longueur totale des hamulis suit une loi normale. Un décalage significatif des modes de ces distributions avec ceux d'autres groupes de *D. dirigerus* et *D. chondrostomi* liés à un autre groupe de Hotu est actuellement recherché. Là encore, la difficulté réside dans l'estimation du rôle des paramètres environnementaux qui agissent sur la physiologie du parasite ou sur celle de l'hôte, avec des conséquences sur les relations hôte-parasite et sur les possibilités d'adaptation du parasite à son hôte.

Discussion et conclusion

Les premiers résultats obtenus, bien que ne permettant pas encore une comparaison des trois méthodes d'identification et de délimitation des populations, nous laissent entrevoir la possibilité de distinguer, au sein d'un pool génétique, des sous unités fonctionnelles à une échelle de temps beaucoup plus brève. Ce sont des conditions environnementales qui isoleraient ces sous unités (conditions thermiques, chimiques, nutritionnelles, ...) réalisant un marquage écologique identifiable par analyse des systèmes enzymatiques de biotransformation ou des associations hôte-parasites.

Les expériences à venir permettront de vérifier la durée de vie de ces marqueurs et donc leur puissance descriptive par rapport à l'ensemble de la population génétique.

Références

- Baer J.G. et Euzet L., 1961. Classe des Monogènes. In Grassé P.P., *Traité de Zoologie*, 4: 243-325.
- Elcombe C.R., Franklin R.B. and Lech J.J., 1979. Introduction of hepatic microsomal enzymes in rainbow trout. In: Khan M.A.Q., Lech J.J. & Menn J.J. (eds), *Pesticide and xenobiotic metabolism in aquatic organisms*. Amer. chem. Soc., Washington, D.C.: 319-337.
- Euzet L. et Combes C., 1980. Les problèmes de l'espèce chez les animaux parasites. In Bocquet C., Genermont J. & Lamotte M., *Les problèmes de l'espèce dans le règne animal*. Mém. Soc. zool. Fr., 40: 239-285.
- Kezic N., Britvic S., Protic M., Simmons J.E., Rijavec M., Zahn R.K. and Kurelec B., 1983. Activity of benzo(a)pyrene monooxygenase in fish from the Sava River, Yugoslavia: correlation with pollution. *Sci. Total Environ.*, 27: 59-69.
- Koivusaari U., Pesonen M. and Hanninen O., 1984. Polysubstraté monooxygenase activity and sex hormones in pre- and postspawning rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquat. Toxicol.*, 5: 67-76.
- Lambert A., 1977. Les Monogènes Monopisthocotylea parasites des poissons d'eau douce de la France méditerranéenne. *Bull. Mus. natn. Hist. nat. Paris*, 3è sér., 429. *Zoologie* 299: 177-214.
- Lambert A. and Romand R., 1984. Are the Dactylogyridae Monogenea biological markers of the Cyprinidæ ? *Cybium*, 8/1: 9-14.
- Le Brun N., Lambert A. and Justine J.L., 1985. Oncomyrcidium, morphogénèse du haptéur et ultrastructure du spermatozoïde de *Pseudodactylogyrus anguillæ* (Yin et Sproston, 1948) Gussev 1985. *Anns Parasito. hum. comp.*, 61/3: 273-284.
- Lech J.J. and Bend J.R., 1980. Relationship between biotransformation and the toxicity and fate of xenobiotic chemicals in fish. *Environ. Health Perspect.*, 34: 115-131.
- Lindstrom-Seppa P., 1980. Seasonal variation of the xenobiotic metabolizing enzyme activities in the liver of male and female vendace (*Coregonus albula* L.). *Aquat. Toxicol.*, 6: 323-331.
- Lynch J.C. and Vyse E.R., 1979. Genetic variability and divergence in grayling *Thymallus thymallus*. *Genetics*, 92: 263-278.
- Monod G., Devaux A. et Rivière J.L., 1986. Une caractérisation écotoxicologique des poissons du Rhône par leurs activités hépatiques de biotransformation. *Colloque Bio. Pop.*, Lyon.
- Morandi H., 1986. Caractérisation des Hotus du Rhône par leur parasitofaune branchiale à Monogènes. *Colloque Bio. Pop.* Lyon.
- Nei M., 1974. A new measure of genetic distance. In Crow J.F. et Denniston C. (eds), *Genetic distance*, Plenum Press, New-York: 63-75.

- Oliver G., 1982. Quelques aspects de la spécificité parasitaire chez les Diplectanidæ Bychowsky, 1957 (Monogenea, Monopisthocotylea). Mém. Mus. natn. Hist. nat. Paris, sér A, Zoologie, 123: 295-301.
- Payne J.F., 1984. Mixed-function oxygenase in biological monitoring programs: review of potential usage in different phyla of aquatic animals. In Persoone E., Jaspers E. et Claus C. (eds), Ecotoxicological testing for the marine environment. State Univ. Ghent & Inst. mar. scient. Res., Bredene, Belgium, 1: 798 p.
- Persat H., Soewardi K., Bouvet Y. et Pattee E., 1986. Caractérisation des populations d'Ombres par leurs polymorphismes morphométrique et électrophorétique. Colloque Bio. Pop. Lyon.
- Prost M., 1963. Investigation on the development and pathogenicity of *Dactylogyrus anchoratus* (Duj. 1845), *D. extensus* Muller et V. Cleave 1932, for breeding carps. Acta parasit. pol., 11/2: 17-48.
- Surre C., Persat H. and Gaillard J.M., A biometrical study of three populations of the European grayling, *Thymallus* (L.) from the French Jura mountains. Can. J. Zool., (sous-presse).

Yvette BOUVET, Eric PATTEE et Henri PERSAT
 Laboratoire de Biologie Animale et Ecologie (UA CNRS 367)
 Université Claude Bernard - Lyon I
 43 bd du 11 novembre 1918
 69622 VILLEURBANNE Cedex

Gilles MONOD
 Laboratoire d'Ecotoxicologie
 INRA-ENVL
 Ecole Vétérinaire de Lyon - B.P. 31
 69752 CHARBONNIERES Cedex

Hervé MORANDI
 Centre National de Formation des Techniciens des Services Vétérinaires
 rue du Vercors
 69960 CORBAS