



HAL
open science

Développement d'outils moléculaire pour l'identification des trois espèces de lamproie

Ahmed Souissi, Anne-Laure Besnard, Guillaume Evanno

► **To cite this version:**

Ahmed Souissi, Anne-Laure Besnard, Guillaume Evanno. Développement d'outils moléculaire pour l'identification des trois espèces de lamproie. Fiche synthèse, OFB; INRAE; Institut Agro; UPPA. 2023, 4 p. hal-04012704

HAL Id: hal-04012704

<https://hal.science/hal-04012704>

Submitted on 3 Mar 2023

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.

Développement d'outils moléculaire pour l'identification des trois espèces de lamproie

2018-2021

Ahmed SOUISSI^{1,2}, Anne-Laure Besnard^{1,2}, Guillaume EVANNO^{1,2}

¹INRAE, DECOD, Dynamique et Durabilité des Ecosystèmes,

²Pôle Gestion des Migrateurs Amphihalins dans leur Environnement, OFB, INRAE, Institut Agro, UNIV PAU & PAYS ADOUR/E2S UPPA

Il y a trois espèces de lamproie en France : La lamproie marine (*Petromyzon marinus*), la lamproie de rivière (*Lampetra fluviatilis*) et la lamproie de Planer (*L. planeri*). La lamproie marine est classée en danger et la lamproie de rivière vulnérable, selon les critères de l'Union Internationale de Conservation de la Nature (UICN), sur la liste rouge des poissons de France. La répartition des trois espèces reste mal connue en France, et ce projet visait initialement à développer une approche de détection des trois espèces avec de l'ADN environnemental (ADNe) extrait à partir d'échantillons d'eau. Une première étape a été le développement de marqueurs moléculaires permettant de distinguer ces espèces. En particulier, la lamproie de Planer et la lamproie de rivière étant impossibles à distinguer morphologiquement au stade juvénile, ce projet a permis de développer un outil moléculaire de discrimination de ces deux espèces. Ainsi, il est désormais possible d'identifier l'espèce à partir d'un morceau de nageoire prélevé de manière non létale sur une larve (dite 'ammocète') collectée sur le terrain. Cette approche pourra permettre de mieux connaître la distribution de chaque espèce de lamproie et en particulier les zones de croissance des ammocètes qui passent plusieurs années enfouies dans le substrat meuble des cours d'eau.

Introduction

A l'âge adulte, la lamproie marine peut être distinguée facilement des deux autres espèces de lamproie. Néanmoins, au stade juvénile, les larves dites 'ammocètes' des trois espèces sont impossibles à distinguer dans leur première année. A partir d'une taille d'environ 5 cm, les ammocètes de *P. marinus* présentent une coloration sombre sur la nageoire caudale qui permet de les distinguer des larves des deux autres espèces. De plus, des marqueurs de l'ADN

mitochondrial permettent aussi de distinguer *P. marinus* des deux espèces de *Lampetra*. En revanche, la lamproie fluviatile et la lamproie de Planer sont très proches génétiquement et leur ADN mitochondrial est similaire. De plus, il n'est pas possible de les distinguer morphologiquement à tous les stades juvéniles. A l'âge adulte, c'est principalement la taille qui permet de distinguer *L. planeri* (10 à 15 cm) de *L. fluviatilis* (18 à 30 cm). Ces deux espèces s'hybrident et sont

considérées comme des écotypes avec un isolement reproducteur partiel. Les objectifs de ce projet étaient donc de développer 1) des marqueurs moléculaires permettant de distinguer ces deux espèces, et 2) une approche de détection de la présence des trois espèces de lamproie par ADN environnemental. Seul le premier objectif a été atteint et ce sont donc uniquement les résultats liés à cet objectif qui sont présentés.

Nous avons tout d'abord identifié des marqueurs de type SNP (Single Nucleotide Polymorphism) avec des allèles distincts entre *L. fluviatilis* et *L. planeri*. En pratique cela consiste à déterminer des zones de l'ADN avec des bases distinctes entre les deux espèces, parmi les quatre bases possibles de l'ADN (A,T,G,C). Nous avons utilisé des données avec plusieurs milliers de SNPs analysés sur 186 individus collectés en France lors d'une étude précédente (thèse de Quentin Rougemont). Cette analyse a nécessité l'assemblage d'un génome de lamproie de Planer. L'individu choisi est un mâle collecté sur l'Oir, un cours d'eau de l'ORE diaPFC (Observatoire de Recherche en Environnement sur les Poissons Diadromes dans les Fleuves Côtiers). Une particularité des lamproies est que seules les cellules germinales possèdent la totalité du génome, l'ADN a donc été extrait à partir du sperme de cet individu. Nous avons ainsi détecté 5 SNPs discriminants entre *L. fluviatilis* et *L. planeri*. Parmi eux, nous en avons sélectionné un qui possède l'avantage de ne pas être présent chez *P. marinus*, sa non-amplification permettant de distinguer les genres *Lampetra* et *Petromyzon*.

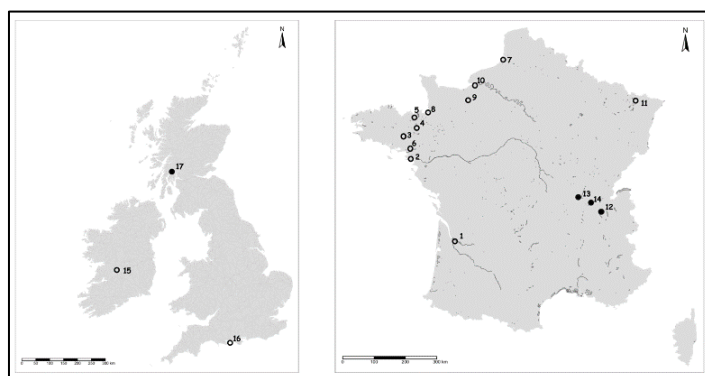
Validation du marqueur

Ensuite, nous avons développé un protocole de PCR quantitative, c'est-à-dire d'amplification ciblée et quantifiée d'une zone du génome, pour analyser en routine ce SNP diagnostique de *L. fluviatilis* et *L. planeri*. Ce marqueur nommé diagLpf a été testé sur 270 échantillons comprenant des larves et des adultes des deux espèces issus de 17 sites de France, mais aussi d'Irlande et du Royaume-Uni. Ces échantillons archivés au laboratoire proviennent pour la plupart d'études précédentes, et ont été collectés grâce au soutien de nombreuses fédérations de pêche et associations migrateurs. Nous avons aussi sollicité des collègues chercheurs du Royaume-Uni et d'Irlande pour avoir des échantillons à une large échelle spatiale afin de tester la validité de diagLpf au-delà des cours d'eau Français. En particulier, nous avons pu avoir des échantillons de la population de lamproies du Loch Lomond en Ecosse, qui possède la particularité d'abriter trois 'formes' de lamproies qui s'hybrident : la lamproie fluviatile (parasite-anadrome), la lamproie de Planer (non parasite-résident en eau douce), et une forme lacustre de la lamproie fluviatile qui parasite des poissons en eau douce.



Photographie des trois espèces de lamproie présentes en France, de bas en haut : lamproie marine, lamproie de rivière (x2) et lamproie de Planer (F. Marchand INRAE)

Les résultats ont été cohérents avec l'identification morphologique dans tous les cas, sauf pour les échantillons provenant du bassin du Rhône et du Loch Lomond en Ecosse. Dans le cas du Rhône, nous pensons que la présence d'une lignée très divergente de Lamproie de Planer (voire d'une espèce cryptique) soit la cause de ce polymorphisme particulier. L'évolution de lignées divergentes entre des bassins versants atlantiques et méditerranéens a déjà été documentée (cas de la truite commune) en lien avec l'histoire glaciaire de ces bassins. Dans le cas du Loch Lomond, les deux formes parasites étaient bien homozygotes (ff) au marqueur diagLpf mais les individus de la forme résidente étaient soit homozygotes (ff) ou hétérozygotes (pf). Ainsi, le marqueur diagLpf n'est pas diagnostique dans ce cas de figure avec plus de 2 formes de *Lampetra* en sympatrie, l'hybridation étant en outre très fréquente entre ces formes.



Cartes des 17 sites échantillonnés : les points blancs indiquent les populations où le marqueur diagLpf fonctionne, et les points noirs les cas où ce marqueur ne permet pas de distinguer *L. fluviatilis* et *L. planeri*

Conclusion opérationnelle

En conclusion, à l'échelle nationale le marqueur diagLpf permet de distinguer les larves ammocètes de *L. planeri* et *L. fluviatilis* (hors bassin du Rhône). Ainsi, lors de la capture d'ammocètes dans le cadre d'inventaires et de pêches électriques, l'identification de l'espèce est désormais possible à partir d'un morceau de nageoire. Cet outil pourrait donc permettre de connaître la répartition des ammocètes des 3 espèces de lamproies dans les bassins-versants, et de déterminer une éventuelle différence d'habitats entre espèces en lien avec les caractéristiques physiques (profondeur, température, degré d'oxygénation, granulométrie...) et biotiques (présence d'autres espèces de lamproies ou d'invertébrés) du substrat.

Nous avons également testé l'amplification de diagLpf avec des échantillons d'ADNe extraits à partir de prélèvements d'eau. Néanmoins, malgré de nombreuses tentatives et tests de divers protocoles, cette démarche n'a pas abouti. À l'avenir, les nombreux développements techniques en cours dans le domaine de l'ADNe, nous permettent toutefois d'espérer pouvoir détecter la présence des lamproies par cette approche.

Valorisation

- Soussi A., Besnard A.-L., Evanno G. (2022) A SNP marker to discriminate the European brook lamprey (*Lampetra planeri*), river lamprey (*L. fluviatilis*) and their hybrids. *Molecular Biology Reports* 49: 10115-10119.
- Le marqueur diagLpf peut être utilisé dans tout laboratoire de biologie moléculaire équipé pour la PCR quantitative.
- Une identification d'ammocètes a été réalisée sur un cours d'eau de Loire Atlantique en collaboration avec la Fédération de pêche 44. Une étude est également en cours avec l'association LOGRAMI sur la Vienne pour l'identification d'ammocètes.

En savoir plus

Soussi A., Besnard A.-L., Evanno G. 2022. Développement d'outils moléculaire et d'échantillonnage pour l'identification et l'étude de la distribution des trois espèces de lamproie à l'échelle nationale. Rapport Pôle Gestion des Migrateurs Amphihalins dans leur Environnement, OFB, INRAE, Institut Agro, UNIV PAU & PAYS ADOUR/E2S UPPA. 17p.
https://hal.science/POLE_MIGRATEURS_AMPHIHALIN/S/hal-03933969

Les équipes impliquées

Le pôle de biologie moléculaire et de bioinformatique de l'UMR DECOD, et l'U3E (Unité d'Ecologie et d'Ecotoxicologie aquatique) pour l'échantillonnage.

Correspondant : guillaume.evanno@inrae.fr

Remerciements

Les associations migrateurs

Les fédérations de pêche

Dr Arne Jacobs (Univ. Glasgow)

Dr. Philipp McGinnity (Univ. College Cork)

Game and Wildlife Conservation Trust (GWCT)

Soutiens financiers

Projet financé par la convention de coopération OFB-INRAE-Institut Agro-UPPA

Pôle gestion des migrateurs amphihalins dans leur environnement (MIAME)