

Polymorphisme enzymatique

POLYMORPHISME ALLOZYMIQUE ET HÉTÉROZYGOTIE CHEZ LE PAGEOT COMMUN, *PAGELLUS ERYTHRINUS* (LINNAEUS, 1758) (SPARIDAE)

par

FASSATOUI Chiheb¹, MDELGI Esma^{1,2}

et ROMDHANE Mohamed Salah¹

Le polymorphisme allozymique du pageot commun, *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, 1758) (Sparidae), a été étudié sur 60 individus provenant des côtes Nord tunisiennes. L'utilisation de dix systèmes enzymatiques a montré la présence de quinze loci, dont sept polymorphes au seuil de 99%. L'analyse de la diversité génétique pour toute la population a révélé un faible niveau d'hétérozygotie ($H_{obs} = 0.034$). La vérification de l'équilibre de Hardy-Weinberg a montré un écart à la panmixie ($F_{is} = 0.179$; $p < 0.01$) dans le sens d'un déficit en hétérozygotes. L'ensemble de ces résultats suggère que *P. erythrinus*, analysé dans cette étude, exprime un niveau de variabilité génétique relativement comparable aux autres Sparidae échantillonnés de Méditerranée.

Mots clés : *Pagellus erythrinus*, Sparidae, polymorphisme allozymique, hétérozygotie.

Allozymic polymorphism and heterozygosity in the common pandora, *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, 1758) (Sparidae)

Allozymic polymorphism of the common pandora, *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, 1758) (Sparidae), was studied in 60 specimens collected from the North Tunisian coast. From ten enzymatic systems, fifteen putative enzyme-coding loci were resolved, seven of which were polymorphic at a level of 99%. Analysis of genetic diversity showed a low level of observed heterozygosity ($H_{obs} = 0.034$). Verification of the Hardy-Weinberg equilibrium indicated a significant departure from panmixia ($F_{is} = 0.179$; $p < 0.01$) with heterozygote deficiency. Our results suggest that *P. erythrinus*, analysed in this study, had a genetic variability relatively comparable to other Sparidae sampled from the Mediterranean Sea.

Key words: *Pagellus erythrinus*, Sparidae, allozymic polymorphism, heterozygosity.

Introduction

Le pageot commun, *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, 1758) (Sparidae), est un poisson marin démersal couvrant une distribution très étendue en Méditerranée, en Mer Noire et dans l'Atlantique oriental (FISCHER *et al.*, 1987). Cette espèce est plus commune de 10 à 100 m de profondeur (SPEDICATO *et al.*, 2002) et elle est principalement hermaphrodite protogyne (BUXTON & GARRATT, 1990).

La majorité des études antérieures ont principalement ciblé sa biologie, la dynamique de ses populations (ZUPANOVIC & RIJAVEC, 1980 ; VASSILOPOULOU *et al.*, 1986 ; MYTILINEOU, 1989 ; LIVADAS, 1989 ; PAJUELO & LORENZO, 1998), sa longévité, sa croissance et son alimentation (ROSECCHI, 1983 ; GIRARDIN & QUIGNARD, 1985) ainsi que sa distribution bathymétrique (SOMARAKIS & MACHIAS, 2002). Exceptée la détermination des marqueurs microsatellites polymorphes par RAMSAK et ses collaborateurs (2003), aucune étude génétique des populations n'a été abordée à ce jour. Le présent travail consiste à étudier le polymorphisme de dix marqueurs allozymiques de cette espèce dans le but d'une étude génétique ultérieure des populations dans les eaux tunisiennes.

Matériel et méthodes

Matériel biologique

Un échantillon de 60 individus de *P. erythrinus* provenant du large de Bizerte (Nord tunisien) a été employé dans cette étude. Cet échantillon a été capturé par les techniques de pêche côtière au mois de juin 2006. La taille standard moyenne des individus est environ de 15 cm. Les individus capturés ont été ramenés directement au laboratoire dans une glacière. Dès leur arrivée, ils sont stockés au congélateur (-25°C) jusqu'à la dissection.

Analyse électrophorétique

Sur chaque individu disséqué, des fragments de muscles et de foie ont été prélevés, homogénéisés dans du tampon Tris-HCL/EDTA/NADP pH 6,8 et centrifugés à 10000 tours/minute. Les surnageants contenant les extraits d'enzymes solubles ont été récupérés et conservés à -25°C. Les électrophorèses ont été réalisées à 4°C, sur des gels horizontaux d'amidon à 11 %.

Dix systèmes enzymatiques codés par 15 loci sont analysés dans la présente étude (tableau 1). Les procédures de coloration histochimique ont été effectuées selon les recettes décrites par PASTEUR *et al.* (1987). Les tampons employés pour chaque système enzymatique sont précisés dans le tableau 1. La nomenclature des enzymes pour la désignation des loci (noms, abréviations et numéros) a été celle de SHAKLEE *et al.* (1990). Des indices sont attribués aux allèles, l'indice « 100 » est attribué arbitrairement à l'allèle le plus fréquent. Les autres variants alléliques auront d'autres indices supérieurs ou inférieurs selon leur distance de migration par rapport à l'allèle de référence « 100 ».

Polymorphism chez le pageot

Tableau 1

Liste des systèmes enzymatiques étudiés chez *Pagellus erythrinus*.
List of enzymes systems studied in *Pagellus erythrinus*.

| Nom du système enzymatique | EC N° | Locî | Tissus | Structure | Tampon ^a | Résolution | Variation ^b | Nombre et Nom des allèles |
|------------------------------------|----------|--------------------|----------------|------------------|---------------------|-------------------|--|--|
| Alcool-Déshydrogénase | 1.1.1.1 | ADH* | Foie | Dimère | TBE 9 | bonne | M | 2 / 100, 130 |
| Glucose-phosphate-isomérase | 5.3.1.9 | GPI-1* GPI-2* | Muscle | Dimère | TC 8 | bonne mauvaise | P _{0.01} — | 2 / 090, 100 — |
| Glucose-6-phosphate-déshydrogénase | 1.1.1.49 | G6PDH* | Foie | Dimère | TC 8 | moyenne | P _{0.01} | 3 / 045, 100, 160 |
| Isocétate-déshydrogénase | 1.1.1.42 | IDHP-A* IDHP-B* | Muscle Foie | Dimère Dimère | TC 7 TC 7 / 8 | bonne bonne | P _{0.05} P _{0.01} | 2 / 100, 122 4 / 060, 100, 130, 160 |
| Malate-déshydrogénase | 1.1.1.37 | MDH-1* MDH-2* | Muscle | Dimère | TC 8 | bonne bonne | P _{0.01} M | 3 / 075, 100, 126 1 / 100 |
| Malico-enzyme | 1.1.1.40 | MEP-1* MEP-2* | Muscle | Dimère | TC 8 | bonne bonne | M P _{0.01} | 1 / 100 2 / 095, 100 |
| Phosphoglucomutase | 5.4.2.2 | PGM* | Muscle | Monomère | TC 8 | bonne | M | 2 / 100, 160 |
| Phosphogluconate déshydrogénase | 1.1.1.44 | PGDH* | Foie | Dimère | TC 8 | bonne | P _{0.05} | 3 / 100, 107, 115 |
| Octanol-déshydrogénase | 1.1.1.73 | ODH* | Muscle | Dimère | TC 8 | faible | M | 1 / 100 |
| Superoxyde-dimutase | 1.15.1.1 | SOD-1* SOD-2* | Foie | Dimère | TBE 8,6 | bonne bonne | M M | 1 / 100 1 / 100 |

(a) Tampons d'électrophorèse utilisés : TBE 9, Tris Borate EDTA pH 9 (AYALA *et al.*, 1972) ; TC 8, Tris Citrate pH 8 (PASTEUR *et al.*, 1987) ; TC 7, Tris Citrate pH 7 (AYALA *et al.*, 1972) et TBE 8,6, Tris Borate EDTA pH 8,6 avec dilution 1/10 de tampon du gel (PASTEUR *et al.*, 1987).
(b) Variation génétique : M, locus monomorphe ; P_{0.01}, locus polymorphe au seuil 99 % ; P_{0.05}, locus polymorphe au seuil 95 %.

Analyse statistique

Les résultats bruts obtenus par électrophorèse sont soumis à des traitements statistiques permettant de calculer les fréquences alléliques aux loci polymorphes. Le degré de la variabilité génétique a été estimé par le taux d'hétérozygotie observé (*Hobs*) et attendu non biaisé (*Hexp*) selon NEI (1978), le nombre moyen d'allèles par locus ainsi que par le taux de polymorphisme moyen. La déviation à l'équilibre de Hardy-Weinberg a été mesurée en utilisant *Fis* de Wright, estimé *f* selon WEIR & COCKERHAM (1984). L'équilibre de Hardy-Weinberg a été testé en utilisant le test exact de RAYMOND & ROUSSET (1995). Les traitements statistiques sont effectués à partir de l'utilisation conjointe des logiciels GENETIX version 4.05.2 (BELKHIR *et al.*, 2004) et GENEPOP version 3.4 (RAYMOND & ROUSSET, 1995).

Résultats et discussion

Comme le montre le tableau 1, sur les 10 systèmes enzymatiques, on a reconnu 15 loci excepté *GPI-2** dont les allèles n'ont pas pu être dénombrés. Ce locus exprime un profil enzymatique difficile à interpréter au niveau des zymogrammes. Globalement, ces résultats sont en accord avec ceux retrouvés par REINA *et al.* (1994) et ALARCÓN & ALVAREZ (1999) chez certaines espèces de la famille des Sparidae, à l'exception de la malate déshydrogénase. Ces auteurs ont montré que ce système enzymatique est codé par 3 loci, tandis que nous n'avons détecté que deux.

Au total, 7 loci se sont avérés polymorphes (*GPI-1**, *G6PDH**, *IDHP-A**, *IDHP-B**, *MDH-1**, *MEP-2** et *PGDH**) au seuil 99 %, parmi lesquels deux uniquement (*IDHP-A** et *PGDH**) polymorphes au seuil 95 %. Le variant allélique *122 du locus *IDHP-A** présente la plus haute fréquence obtenue (0,105). La diversité génétique de notre échantillon de *P. erythrinus* est relativement faible (tableau 2). En effet, le nombre

Tableau 2

Hétérozygotie observée (*Hobs*) et attendue non biaisé (*Hexp*) et les valeurs *Fis* selon WEIR & COCKERHAM (1984) chez *Pagellus erythrinus*.
Observed heterozygosity (*Hobs*), unbiased expected heterozygosity (*Hexp*) and *Fis* values according to WEIR & COCKERHAM (1984) in *Pagellus erythrinus*.

| Loci | <i>Hobs</i> | <i>Hexp</i> | <i>Fis</i> |
|----------------|-------------|-------------|------------|
| <i>GPI-1*</i> | 0.000 | 0.033 | 1** |
| <i>G6PDH*</i> | 0.050 | 0.050 | - 0.012 |
| <i>IDHP-A*</i> | 0.211 | 0.191 | - 0.109 |
| <i>IDHP-B*</i> | 0.050 | 0.050 | - 0.009 |
| <i>MDH-1*</i> | 0.033 | 0.033 | - 0.004 |
| <i>MEP-2*</i> | 0.000 | 0.065 | 1*** |
| <i>PGDH*</i> | 0.101 | 0.129 | 0.217 |
| La moyenne | 0.034 | 0.041 | 0.179** |

** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Polymorphism chez le pageot

moyen d'allèles par locus estimé est de l'ordre de 2, l'hétérozygotie attendue non biaisée par locus varie de 0,191 à 0,033 avec une moyenne de l'ordre de 0,041 (tableau 2) et le taux de polymorphisme moyen au seuil de 95 % est équivalent à 0,142. L'hétérozygotie attendue moyenne en comparaison avec celle qui est calculée pour les espèces marines selon WARD *et al.* (1994) est faible mais proche (0,041 et 0,063 respectivement).

L'analyse des valeurs *Fis* indique que la majorité des loci sont en équilibre de Hardy-Weinberg (tableau 2). Ces loci expriment des valeurs *Fis* négatives non significatives traduisant ainsi un léger excès en hétérozygotes. Cependant, les valeurs *Fis* des loci *GPI-1** et *MEP-2** montrent un déficit en hétérozygotes significatif responsable du déséquilibre panmictique de l'échantillon (*Fis* moyenne = 0,179, $p < 0,01$). En effet, et même en appliquant le test de Jackknife, la valeur *Fis* demeure non significative à ces deux loci. SINGH & GREEN (1984) ont proposé quatre hypothèses possibles pour expliquer ce déficit : la consanguinité, l'effet de Wahlund, la présence d'allèles nuls et la sélection. L'idée de la présence d'allèles nuls est à rejeter car nous ne l'avons pas détectée dans notre échantillon. Les autres facteurs comme la consanguinité, l'effet de Wahlund et éventuellement la sélection peuvent être des causes de déficit pour cette population.

1. Unité de Recherche Écosystèmes et Ressources Aquatiques,
Institut National Agronomique de Tunisie - 43, avenue Charles Nicolle,
1082 Tunis, Tunisie.

2. Institut Supérieur de la Pêche et de l'Aquaculture de Bizerte,
El Rimel, Bizerte, Tunisie.

E-mail : fassatouichiheb@yahoo.fr

RÉFÉRENCES

- ALARCÓN, J.A. & ALVAREZ, M.C. (1999).- Genetic identification of sparid species by isozyme markers: application to interspecific hybrids. *Aquaculture*, **173**, 95-103.
- AYALA, F.J., POWELL, J.R., TRACEY, M.L., MOURAO, C.A. & PÉREZ-SALAS, S. (1972).- Enzyme variability in the *Drosophila willistoni* group. IV. genic variation in natural populations of *Drosophila willistoni*. *Genetics*, **70**, 113-139.
- BELKHIR, K., BORSA, P., CHIKKI, L., GOUDET, J. & BONHOMME, F. (2004).- GENETIX, Version 4.05.2. Logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- BUXTON, C.D. & GARRATT, P.A. (1990). Alternative reproductive styles in seabreams (Pisces: Sparidae). *Environ. Biol. Fishes*, **28**, 113-124.
- FISCHER, W., SCHNEIDER, M. & BAUCHOT, M.-L. (1987).- Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche (Révision 1). Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. Volume II. Vertébrés. FAO et Commission des Communautés Européennes, Rome, 2, 761-1530.
- GIRARDIN, M. & QUIGNARD, J.-P., (1985).- Croissance de *Pagellus erythrinus* (Pisces: Téléostéens Sparidae) dans le Golfe du Lion. *Cybium*, **9**, 359-374.
- LIVADAS, R.J. (1989).- A study of the biology and population dynamics of pandora (*Pagellus erythrinus* L., 1758), Family Sparidae, in the Seas of Cyprus. *FAO Fish. Rep.*, **412**, 58-76.

Bulletin de la Société zoologique de France 133 (1-3)

- MYTILINEOU, C. (1989).- Données biologiques sur le pageot, *Pagellus erythrinus*, des côtes orientales de la Grèce centrale. *FAO Fish. Rep.*, **412**, 77-82.
- NEI, M. (1978).- Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**, 583-590.
- PAJUELO, J.G. & LORENZO, J.M. (1998).- Population biology of the common Pandora *Pagellus erythrinus* (Pisces: Sparidae) off the Canary Islands. *Fish. Res.*, **36**, 75-86.
- PASTEUR, N., PASTEUR, G., BONHOMME, F., CATALAN, J. & BRITTON-DAVIDIAN J., (1987).- *Manuel de génétique par électrophorèses des protéines*. Collection Techniques et Documentation. Lavoisier, Paris, 1-217.
- RAMSAK, A., GAROIA, F., GUARNIERO, I., MANNINI, P. & TINTI, F. (2003).- Novel polymorphic microsatellite markers for the common pandora (*Pagellus erythrinus*). *Mol. Ecol. Notes*, **3**, 553-555.
- RAYMOND, M. & ROUSSET, F. (1995).- GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.*, **86**, 248-249.
- REINA, J., MARTINEZ, G., AMORES, A. & ALVAREZ, M.C. (1994).- Interspecific genetic differentiation in Western Mediterranean sparid fish. *Aquaculture*, **125**, 47-57.
- ROSECCHI, E. (1983).- Régime alimentaire du pageot, *Pagellus erythrinus*, Linné 1758, (Pisces, Sparidae) dans le Golfe du Lion. *Cybium*, **7** (3), 17-29.
- SHAKLEE, J.B., ALLENDORF, F.W., MORITZ, D.C. & WHITT, G.S. (1990).- Gene nomenclature for protein-coding loci in fish. *Trans. Am. Fish Soc.*, **119**, 2-15.
- SINGH, S.M. & GREEN, R.H. (1984).- Excess of allozyme homozygosity in marine molluscs and its possible biological significance. *Malacologia*, **25** (2), 569-581.
- SOMARAKIS, S. & MACHIAS, A. (2002).- Age, growth and bathymetric distribution of red pandora (*Pagellus erythrinus*) on the Cretan shelf (eastern Mediterranean). *J. Mar. Biol. Ass. UK.*, **82**, 149-160.
- SPEDICATO, M.T., GRECO, S., SOPHRONIDIS, K., LEMBO, G., GIORDANO, D. & ARGYRI, A. (2002).- Geographical distribution, abundance and some population characteristics of the species of the genus *Pagellus* (Osteichthyes: Perciformes) in different areas of the Mediterranean. *Sci. Mar.*, **66** (Suppl 2), 65-82.
- VASSILOPOULOU, V., MYTILINEOU, C. & PAPACONSTANTINO, C. (1986).- Preliminary biological data on the red pandora (*Pagellus erythrinus* L., 1758) in the Greek seas. *FAO Fish. Rep.*, **361**, 107-112.
- WARD, R.D., WOODWARK, M. & SKIBINSKI, D.O.F. (1994).- A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater and anadromous fishes. *J. Fish Biol.*, **44**, 213-232.
- WEIR, B.S. & COCKERHAM, C.C. (1984).- Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**, 1358-1370.
- ZUPANOVIC, S. & RIJAVEC, L. (1980).- Biology and population dynamics of *Pagellus erythrinus* (L.), in the insular zone of the middle Adriatic. *Acta Adriat.*, **21**, 203-226.