

COMMUNICATION ORALE

# Diversité génétique du genre *Barbus* dans les rivières tchèques et slovaques

## Résultats préliminaires<sup>1</sup>

par

V. SLECHTOVA<sup>2</sup>, V. SLECHTA<sup>2</sup> et P. BERREBI<sup>3</sup>

### SUMMARY : Genetic diversity of *Barbus* in Czech and Slovak rivers : preliminary results.

During 1992, seven localities were sampled in order to study the genetic structure of *Barbus* populations. For two species in Czech and Slovak rivers, the electrophoretic analyses of 12 enzyme systems representing 25 presumptive loci were carried out. Species-diagnostic loci were identified and polymorphism at several loci found. In three populations studied, fertile hybrids between both species were recognized. We present evidence that hybrids are fertile.

### RÉSUMÉ

Durant l'année 1992, sept localités ont été échantillonnées pour étudier la structure génétique des populations du genre *Barbus*. Pour les deux espèces vivant dans des rivières tchèques et slovaques, les analyses électrophorétiques de 12 systèmes représentant 25 locus présumés ont été faites. Les locus diagnostiques ont été reconnus et le polymorphisme de plusieurs de ces locus mesuré. Dans trois de ces populations, des hybrides fertiles entre ces deux espèces ont été trouvés et leur fertilité mise en évidence.

## Introduction

Deux espèces du genre *Barbus* se rencontrent dans les rivières tchèques et slovaques, *Barbus barbus* et *Barbus meridionalis*. Alors que la première espèce vit sur la totalité des deux républiques, la seconde est quasiment limitée à l'est de la Slovaquie. En 1976, KRUPKA et HÖLČIK ont décrit des individus qui furent considérés comme appartenant à l'espèce *B. plebejus* et d'origine supposée hybride. Plus tard, VALENTA *et al.* (1979) ont effectué des analyses biochimiques de barbeaux de la rivière Poprad. Leurs résultats sur les transferrines et d'autres protéines se sont avérés complexes, ce qui a suggéré qu'une hybridation avait lieu dans cette rivière.

La vérification de cette hypothèse est l'objectif principal de ce travail.

<sup>1</sup> Manuscrit reçu le 25 juin 1993 ; accepté le 8 juillet 1993.

<sup>2</sup> Institute of Animal Physiology and Genetics, Laboratory of Fish Genetics, Academy of Sciences of Czech Republic, 277 21 LIBECHOV, Czech Republic.

<sup>3</sup> Laboratoire Génome et Populations (URA 1493 du CNRS), CC 063, Université Montpellier 2, place E. Bataillon, 34095 MONTPELLIER Cedex 05, France.

## Matériel et méthodes

Un total de 160 barbeaux issus de 7 localités (voir **tableau I**) a été échantillonné et analysé.

**Tableau I.** Composition spécifique des populations de barbeaux analysées.

**Table I.** *Species composition in samples of Barbus populations analysed.*

BASSIN	RIVIERE	STATION et SIGLE ( )	N° indiv.	% DE GÉNOTYPES		
				<i>barbus</i>	<i>merid.</i>	hybride
Tisza/Danube	Laborec	Humenné (L)	20	0	95	5
	Torysa	Sabinov (S)	33	0	90,91	9,09
Vistule	Poprad	Plavec (P)	18	66,67	3,33	0
		Andrejovk (A)	38	36,84	57,89	5,26
Morava/Danube	Rokytnà	(R)	6	100	0	0
	Oslava	près de Brn (O)	24	100	0	0
Elbe	Sàzava	(Z)	21	100	0	0

Des échantillons de foie et de muscle ont été broyés, centrifugés et le surnageant analysé par électrophorèse sur gel d'amidon horizontal. Après électrophorèse, des colorations enzymatiques spécifiques ont été effectuées selon les méthodes de HARRIS et HOPKINSON (1976). Les systèmes tampon utilisés et la liste des enzymes sont donnés au **tableau II**.

**Tableau II.** Liste et caractéristiques des systèmes enzymatiques analysés.

**Table II.** *Protein systems analysed.*

SYSTEMES ENZYMATIQUES		TISSU	TAMPON
transferrine	TF	S	F
lactate déshydrogénase	LDH	L, M	V, Po
malate déshydrogénase	MDH	L, M	V, Ph
enzyme malique	ME	L, M	V
isocitrate déshydrogénase	IDH	L, M	V, Ph
aspartate aminotransférase	AAT	M	V
phosphoglucomutase	PGM	L, M	Po
glycerophosphate déshydrogénase	GPDH	M, L	V
phosphogluconate déshydrogénase	6PGDH	L	V
alcool déshydrogénase	ADH	L	V
fumarase	FUM	L	V
estérase	EST	L, M	V, F
glucosephosphate isomérase	GPI	L, M	V, F
superoxyde dismutase	SOD	L	V, F, Po
protéines totales	PT	M	F

Abbréviations :

tissu : S = serum ; M = muscle ; L = foie.

tampon : F — FERGUSON and WALLACE (1961), *Nature*, **190** : 629-630 ;

Ph — PHILIPP *et al.* (1979), *J. Exp. Zool.*, **210** : 473-488 (Tris-citrate) ;

V — VALENTA *et al.* (1971), *Acta Vet. Scand.*, **12** : 15-35 ;

Po — POULIK (1957), *Nature*, **180** : 1477.

Après lecture des génotypes sur les zymogrammes, des analyses multivariées ont été faites grâce au logiciel BIOMEKO version 3.0 (CNRS, Montpellier, France).

## Résultats

Ces résultats constituent une étude préliminaire avec un nombre limité d'individus et de systèmes enzymatiques. Ils doivent être confirmés par l'analyse complète de l'échantillonnage effectué cette année.

Après électrophorèse, nous avons trouvé 15 locus polymorphes et 10 monomorphes. 3 autres systèmes enzymatiques n'ont pas été utilisés dans l'analyse car leur mise au point n'est pas satisfaisante. Sur ces 25 locus, 8 n'ont pu être exploités car le nombre total de poissons actuellement analysés est trop faible. D'autre part, les 4 locus du système GPI, trop complexes et imbriqués, n'ont pu être décodés correctement. Dans l'analyse finale, seuls 13 locus ont pu être utilisés. Pour l'instant, nous avons mis en évidence 4 locus enzymatiques diagnostiques pour la discrimination des deux espèces : *Ldh-C\**, *sMdh-4\**, *Pgm-3\** et *Tp\**. En utilisant ces locus, nous avons pu constater que dans les rivières étudiées en République Tchèque (les rivières Sazava, Oslava et Rokytina), seul *Barbus barbatus* a été rencontré. Dans les rivières slovaques, par contre, les deux espèces coexistent dans la majorité des localités.

En utilisant également les 4 locus diagnostiques, nous avons défini des hybrides interspécifiques possédant simultanément le génotype hybride à certains locus et les génotypes purs à d'autres. Le pourcentage d'introgression est différent selon les localités (**tableau III**). Dans la localité Plavec (rivière Poprad) aucun hybride n'a été trouvé malgré la présence des deux espèces.

**Tableau III.** Nature des locus diagnostiques chez les 6 hybrides rencontrés (la première lettre indique la localité, voir **tableau I**).

M = génotype *meridionalis* ; B = génotype *barbus* ; H = génotype hybride ; - = non analysé.

**Table III.** Diagnostic loci in the 6 hybrids analysed (the first letter indicate the locality, see **table I**).

M = *meridionalis* genotype ; B = *barbus* genotype ; H = hybrid genotype ; - = not scored.

NUMÉRO DE L'HYBRIDE	GÉNOTYPES AUX LOCUS :				% DE GÉNOTYPES M
	<i>LdhC*</i>	<i>sMDH4*</i>	<i>Pgm3*</i>	<i>Tp*</i>	
L457	-	B	B	H	16,67
S492	M	H	H	-	66,67
S505	M	H	H	-	66,67
S518	M	H	M	-	83,33
A012	-	B	M	B	33,33
A073	-	H	H	H	50,00

Les projections de l'analyse multidimensionnelle (AFC) traitant tous les individus simultanément nous montrent deux groupes principaux qui correspondent aux deux espèces, le barbeau commun et le barbeau méridional. Des individus dont la position est intermédiaire montrent qu'il y a des relations entre les deux espèces. Les analyses séparées des deux groupes montrent de façon plus détaillée les différenciations intraspécifiques. Chez *Barbus barbatus*, les populations slovaques (P et A, voir **tableau I**) sont nettement séparées des autres (O, Z et R), O étant la plus proche des échantillons slovaques. *Barbus meridionalis* n'a été échantillonné qu'en Slovaquie. Les populations S et L provenant de stations appartenant au même bassin hydrographique (Tisza / Danube) constituent les deux extrêmes de la différenciation tandis que les deux populations échantillonnées dans des affluents de la Vistule (A et P) sont en position intermédiaire et couvrent partiellement la variabilité des deux premières.

## Discussion et conclusion

Les résultats de cette étude préliminaire nous donnent des informations nouvelles à deux niveaux :

### Niveau intra-spécifique :

Le barbeau commun est connu pour être génétiquement très stable entre la France et la Belgique (BERREBI, sous presse, 1994). Ainsi, la différenciation entre des populations vivant dans des cours d'eau proches de Slovaquie et de Moravie était supposée très faible. A l'opposé, le barbeau méridional a formé des taxons bien différenciés, souvent considérés comme de vraies espèces, dans chaque zone de sa répartition, dans des pays voisins comme la France, l'Italie ou la Grèce (BERREBI, sous presse, 1994).

Les résultats concernant les populations tchèques et slovaques de ces espèces donnent une image très différente de celle qu'on attendait :

— *Barbus barbus* montre deux combinaisons distinctes de génotypes multilocus qui ne peuvent s'expliquer que par un long isolement. Les deux régions qui ont mené à une telle différenciation sont le bassin de la Vistule d'un côté et les bassins de l'Elbe et de la Morava / Danube de l'autre. Cela peut correspondre à une connexion récente entre les deux derniers bassins.

— *Barbus meridionalis* a montré une différenciation plutôt faible entre ces populations de l'est de la Slovaquie (S, L, A et P), sans corrélation avec la position géographique des stations. Les différences sont probablement dues à la variabilité enzymatique intrapopulationnelle.

### Niveau inter-spécifique :

En Slovaquie, contrairement à la situation en France, les deux espèces se rencontrent en sympatrie dans de relativement grandes parties des rivières, avec cependant la même polarité altitudinale que les barbeaux français.

Les deux espèces peuvent être aisément caractérisées avec les quatre locus diagnostiques. La première analyse multidimensionnelle incluant la totalité de l'échantillonnage avait fait la partition entre les deux espèces. Cependant, toujours à partir de ces locus particulier, il est possible d'affirmer que des hybridations interspécifiques ont lieu dans les rivières Laborec et Trysa (bassin de la Tisza / Danube, coulant vers le sud) et dans la rivière Poprad (bassin de la Vistule, coulant vers le nord). A partir du **tableau III**, analysant les génotypes des 6 individus hybrides rencontrés, un seul individu (n° A073) possède uniquement des génotypes hétérozygotes entre les deux espèces et pourrait être un F1, tous les autres ne peuvent être que des hybrides de générations ultérieures (probablement backcrosses). Il est donc démontré que ces hybrides sont fertiles et peuvent interférer dans la reproduction des espèces parentales.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le C.N.R.S., l'Académie des Sciences Tchèque et la Communauté Européenne pour leur aide financière.

## BIBLIOGRAPHIE

- BERREBI P., ss. presse (1994). — Speciation of the genus *Barbus* in the North Mediterranean basin : recent advances from biochemical genetics. *Biological Conservation*.
- HARRIS H. & HOPKINSON J. (1976). — *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics*. North Holland Publ. Co., Amsterdam.
- KRUPKA I. & HOLCIK J. (1976). — On the occurrence of *Barbus plebejus* in the Poprad River (Vistula basin, Czechoslovakia) with regard to its assumed hybrid origin. *Vest. Cs. Spol. Zool...* **40** (3) : 163-178.
- VALENTA M., RAB P., STRATIL A., KALAL L. & OLIVA O. (1979). — Karyotypes, heterogeneity and polymorphism of proteins in the tetraploid species *Barbus meridionalis* and his hybrids with *Barbus barbus*. In : *Proc. XVIth Int. Conf. on Animal Blood Grps and Biochem. Polymorphism, IV* : 204-214. Leningrad.