

NOTE SUR LE SERUM DE 4 ESPÈCES DE *TILAPIA* :
***TILAPIA MOSSAMBICA* PETERS, 1852, *T. NILOTICA* (LINNAEUS, 1758)**
***T. ZILLII* (GERVAIS, 1848) ET *T. MACROCHIR* BOULENGER, 1912.**

J.-C. BARON

Océanographe Biologiste, Centre O.R.S.T.O.M. de Dakar, B.P. 1386 - Dakar (Sénégal)

RÉSUMÉ

L'électrophorèse du sérum de quatre espèces de Tilapia (gardés en captivité depuis plusieurs années) est effectuée en gel d'amidon et en gel d'acrylamide à gradient de concentration. Les estérases et les lactico-déshydrogénases sont localisées sur les électrophorégrammes.

ABSTRACT

Electrophoresis of the sera from four species of Tilapia (in captivity for several years) was done in starch gel and in polyacrylamide gel in a continuous molecular sieve gradient. Esterases and lactate dehydrogenases are located on the electrophoregrams.

INTRODUCTION.

Les *Tilapia* sont des poissons d'importance économique et font l'objet d'élevage en Afrique où diverses espèces ont été introduites, donnant des hybrides fertiles avec les espèces endémiques. Des problèmes de taxinomie se posent et la connaissance des caractéristiques biochimiques des espèces seconde utilement les critères morphométriques. ILES et HOWLETT en 1967 commencèrent des études électrophorétiques du sang de deux espèces de *Tilapia* (dont *T. zillii*). Puis MALECHA en 1968 (*T. macrochir*), CHEN et TSUYUKI en 1970 (*T. mossambica* et *T. zillii*) et BADAWI en 1971 (*T. nilotica* et *T. zillii*) effectuèrent des études électrophorétiques à partir du sang et des tissus de *Tilapia* avec des déterminations de protéines particulières telles que la transferrine ou certaines enzymes : LDH, G6PD, estérases (tableau 1). Certains auteurs s'intéressent aux globules rouges et aux leucocytes (ÉZZAT *et al.*, 1974).

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES.

Quatre espèces de *Tilapia* ont été étudiées : *Tilapia mossambica* Peters 1852, *T. nilotica* (Linnaeus, 1758), *T. zillii* (Gervais 1848) et *T. macrochir* Boulenger, 1912. Ces poissons étaient gardés en captivité en France (1) depuis une dizaine d'années pour *T. mossambica* et depuis 1967 pour les 3 autres espèces qui proviennent de Bouaké (Côte d'Ivoire).

Le sang a été prélevé par ponction intra-cardiaque, sans anesthésie. Après coagulation et centrifugation le sérum a été soumis à une séparation électrophorétique en gel d'amidon avec un appareil et un protocole déjà décrits (BARON, 1972).

Le tampon utilisé est de type discontinu borate-lithium, tris-citrique. La solution pour les bacs à électrodes est la suivante : hydroxyde de lithium

(1) Station Centrale de Physiologie Animale de l'Institut National de la Recherche Agronomique, 78 Jouy-en-Josas.

TABLEAU I

Les protéines sériques de quelques espèces de *Tilapia (Cichlidae)* incluant les résultats de l'auteur

ESPÈCE	PROTÉINÉMIE en g/l	FRACTIONS PROTÉIQUES	PROTÉINES PARTICULIÈRES		AUTEURS
<i>T. nilotica</i>	65	Papier : 7 constituants de % 4,8 - 11,6 - 22,3 - 9,5 - 12,1 - 21,2 - 18,5	LDH monomorphique	Est. monomorphique EsM	BADAWI 1971
	46 ♀ 38 ♂	Amidon : 15 constituants + 1 protéine suppl. chez la femelle			BARON 1975
<i>T. zillii</i>	37	Papier : 6 constituants de % 6,4 - 6,4 - 20,8 - 20,4 - 30-16	LDH 1 bande principale et 1 bande secondaire	Est. monomorphique EsS Est. 1 bande forte 1 bande très faible	BADAWI 1971
	23	Amidon : 16 constituants			BARON 1975 CHEN et al. 1970
<i>T. mossambica</i>	16	Amidon : 15 constituants	LDH monomorphique 1 Tf en position 2 LDH monomorphique	Est. polymorphique : EsM et EsF Est. monomorphique	BARON 1975 CHEN et al. 1970
<i>T. macrochir</i>	29	Amidon : 16 constituants	Tf A, B, C 6 phénotypes	Est. 1 bande forte EsF 1 bande faible EsVs	BARON 1975 MALECHA et al. 1968
<i>T. galilea</i>	75	Papier : 7 constituants de % 7,8 - 8 - 9,2 - 17,2 - 9,6 - 27,9 - 20,3			BADAWI 1971
<i>T. aurea</i>		Papier : 7 constituants de % 4,4 - 10,8 - 22,5 - 10 - 12,9 - 22,4 - 17			BADAWI 1971
<i>T. hornorum</i>			1 Tf principale en position 1 1 Tf faible en position 2 LDH monomorphique	Est. monomorphique	CHEN et al. 1970
<i>T. melanopleura</i>			LDH monomorphique	Est. 1 bande forte 1 bande très faible	CHEN et al. 1970

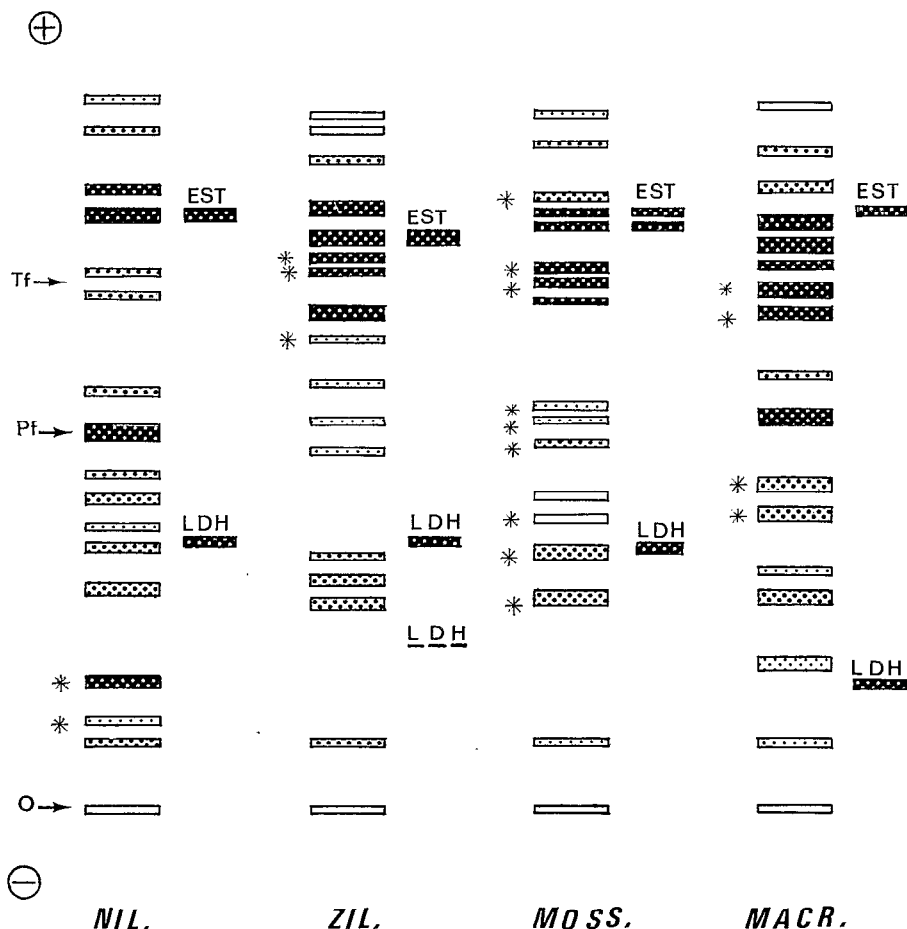


Fig. 1. — Schéma des électrophorogrammes de sérums de *Tilapia* après électrophorèse en gel d'amidon (grandeur nature). Les zones de migration de la transferrine (Tf) et de la protéine femelle (Pf) sont repérées par des flèches. O = origine de la migration * fractions présentant une variabilité individuelle ; NIL = *Tilapia nilotica*, ZIL = *T. zillii*, MOSS = *T. mossambica* et MACR = *T. macrochir*.

5,244 g et acide borique 30,920 g pour 5 litres d'eau distillée, pH = 8,5. La solution utilisée pour le gel comprend 1 volume de la solution précédente pour 9 volumes de tampon tris-citrique (Tris 12,10 g et acide citrique 3,20 g pour 2 litres d'eau distillée pH = 8,3). Les estérases sont révélées dans le bain n° 1 et les lacticodeshydrogénases sont révélées à l'obscurité dans le bain n° 2.

Bain n° 1:

— Tampon Tris-Hel 0,1 M pH = 7,5	200 ml
— α naphtylacétate 0,05 g) 8 ml
— β naphtylacétate 0,05 g	
— acétone 10 ml	
— Fast blue BB salt	200 mg

Bain n° 2:

— Tampon Tris 0,1 M pH = 7,5	20 ml
— Lactate de lithium	192 mg
— NAD	28 mg
— NBT	32 mg
— PMS	2,4 mg

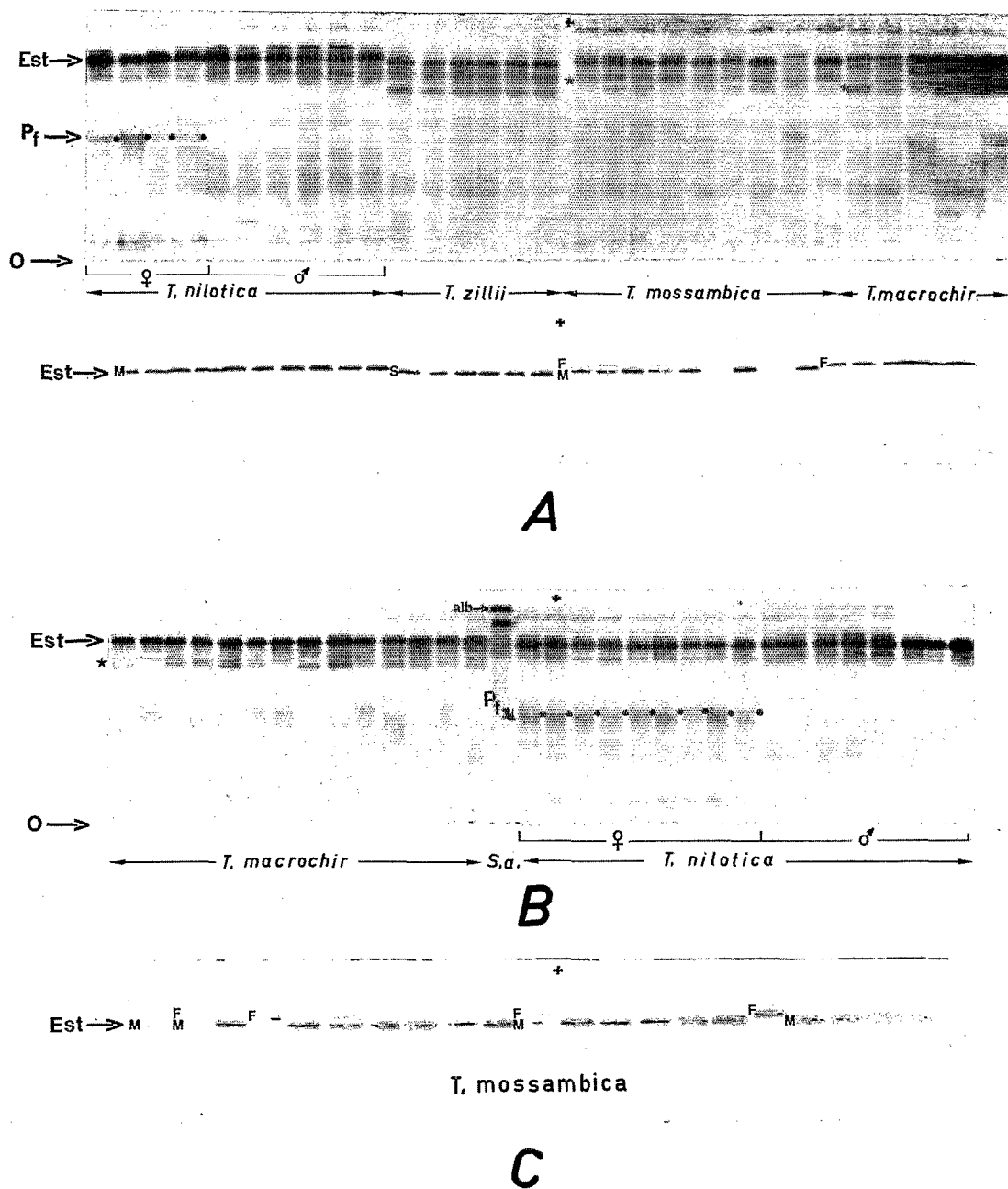
Une analyse électrophorétique en gel de polyacrylamide à concentration croissante de 4 à 24 %

a été effectuée avec le matériel Gradipore. Le tampon utilisé est un tampon Tris-borate — EDTA de pH = 8,2 et la migration est effectuée pendant 19 heures avec une ddp au redresseur de 50 volts. Les teneurs en protéines ont été évaluées par la méthode du biuret.

2. RÉSULTATS.

La teneur en protéines du sérum de ces poissons est très faible, affecte surtout l'albumine à en juger par un sérum de référence de *Sardinella aurita* (Pl. I, B) et résulte très certainement de la captivité prolongée. Les poissons ayant la plus longue captivité (*T. mossambica*) présentent le taux en protéines le plus bas (16 g/l). Pour l'espèce où l'on a tenu compte du sexe (*T. nilotica*) on note une teneur en protéines plus élevée chez la femelle (45 g/l) que chez le mâle (38 g/l) correspondant à une protéine supplémentaire (Pf) révélée par l'analyse électrophorétique (fig. 1 et planche I).

Planche I



- A. — Électrophorégrammes des sérums de 10 *T. nilotica* (4 femelles et 6 mâles), 6 *T. zillii*, 9 *T. mossambica* et 6 *T. macrochir*.
Gel d'amidon à 12 %, tampon lithium-borate, tris citrique de pH = 8,5, migration à 4,5 V/cm pendant 6 heures.
En haut : Révélation des protéines totales. En bas : Révélation des estérases — O = origine de la migration. Pf = protéine femelle.
Est. = Estérases.
- B. — Électrophorégrammes des sérums de 14 *T. macrochir* et de 17 *T. nilotica* (9 femelles et 8 mâles) — S.a. : sérum de *Sardinella aurita* (Clupeidae) reconstitué après lyophilisation.
- C. — Zymogrammes des estérases de 21 sérums de *T. mossambica*.

L'électrophorèse en gel d'amidon révèle une quinzaine de fractions (fig. 1) et l'électrophorèse en gradient de polyacrylamide une vingtaine de fractions (fig. 2).

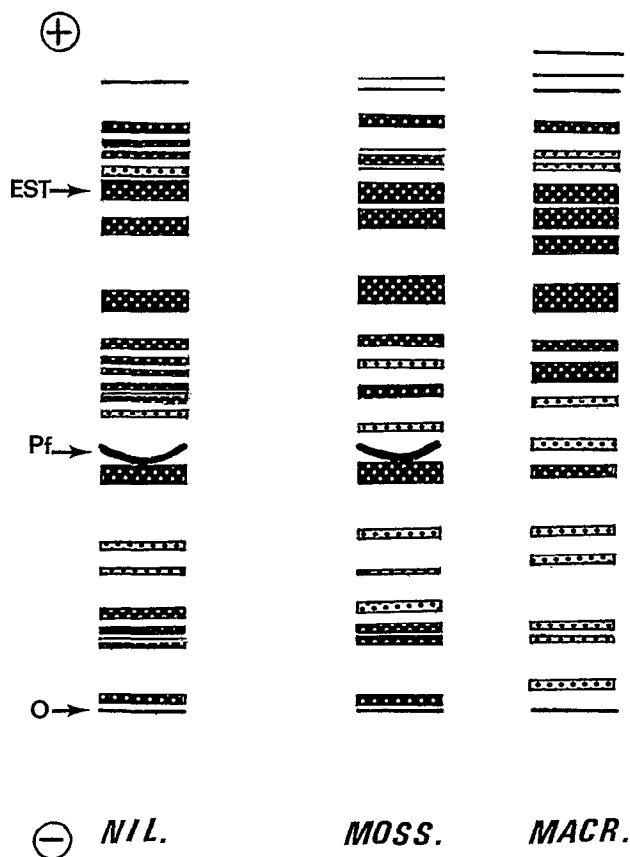


Fig. 2. — Schéma des électrophorégrammes de sérums de *Tilapia* après électrophorèse en gel de polyacrylamide à gradient de concentration de 4 à 24 %. O = origine de la migration — NIL = *Tilapia nilotica*, MOSS = *T. mossambica* et MACR = *T. macrochir*.

Certaines fractions sont sujettes à des variations individuelles dont l'étude détaillée sur un grand nombre d'individus pourrait révéler un polymorphisme intéressant. La lacticoxydohydrogénase révélée à pH = 7,5 est monomorphique, lente chez *T. macrochir* et plus rapide pour *T. nilotica*, *zillii* et *mossambica*. Chez ce dernier un tampon de pH 8,1 ne permet pas de révéler la LDH qui est bien révélée chez les autres espèces (fig. 5). Les estérases non inhibées par le dichlorvos $3.10^{-5}M$ sont monomorphiques chez *T. zillii* (EsS) et *T. nilotica* (EsM). Chez *T. macrochir* on distingue une seconde bande très faible mais constante (EsVs) en plus de l'estérase principale (EsF). Chez ces trois espèces l'estérase a

une mobilité relative croissante : lente pour *T. zillii*, moyenne pour *T. nilotica* et rapide pour *T. macrochir*. Chez *T. mossambica* les estérases occupent deux positions possibles F (2 individus sur 25) ou M (16 individus sur 25) certains individus possédant 2 estérases EsF et EsM (7 sur 25) migrant comme les estérases d'un mélange de sérums de *T. macrochir* et *T. nilotica* (fig. 3 et fig. 4).

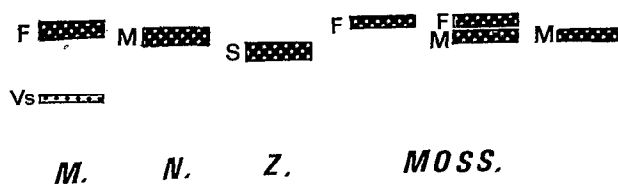


Fig. 3. — Représentation schématique des estérases du sérum des 4 espèces de *Tilapia*. M = *T. macrochir*, N = *T. nilotica*, Z = *T. zillii*, MOSS = *T. mossambica*.

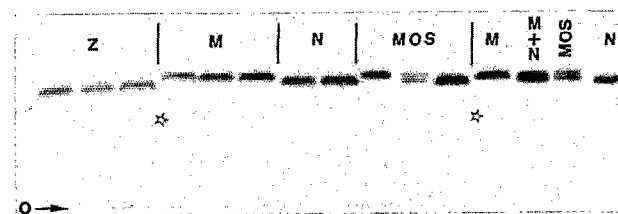


Fig. 4. — Photographie du zymogramme obtenu par révélation des estérases du sérum des 4 espèces de *Tilapia*. Z = *zillii*, M = *macrochir*, N = *nilotica*, MOS = *mossambica*, M+N = mélange des sérums des deux espèces *mossambica* et *nilotica*.

Il est donc possible de différencier chacune des quatre espèces par l'électrophorèse du sérum et la révélation des estérases et des lacticoxydohydrogénases.

3. DISCUSSION.

Des différences ont été constatées avec les données de certains auteurs, principalement en ce qui concerne *T. mossambica*. Les déterminations exactes des *Tilapia* sont parfois compliquées par des colorations variant avec le comportement (LANZING et al., 1974) ou par des hybridations. Les conditions d'analyses électrophorétiques n'étant pas normalisées il est parfois difficile d'effectuer des comparaisons. Ainsi nous trouvons comme CHEN et TSUYUKI que l'estérase sérique de *T. mossambica* est plus rapide que celle de *T. zillii* (tampon lithium-borate pH = 8,2) mais des résultats inverses concer-

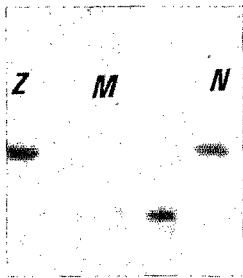


Fig. 5. — Photographie du zymogramme obtenu par révélation des L.D.H. du sérum d'un *T. zillii*, 3 *T. macrochir* et un *T. nilotica*.

nant la LDH (tampon tris-critique pH = 8,0). De plus nous n'avons pas détecté la seconde estérase faible signalée par ces auteurs chez *T. zillii* par contre les *T. mossambica* étudiés présentent une estérase sérique polymorphique. On ne peut écarter l'hypothèse d'un certain mélange entre *T. mossambica*, *T. nilotica* et *T. macrochir* dans la station d'origine (Bouaké) où ces espèces sont croisées pour produire des jeunes monosexes mâles. Nous noterons que certains *T. mossambica* ont une estérase rapide de

même mobilité que celle de *T. macrochir* et une estérase lente de même mobilité que celle de *T. nilotica*. Un mélange *in vitro* de sérums de *T. macrochir* et *T. nilotica* présente deux estérases de mobilités identiques aux 2 estérases de certains *T. mossambica* (fig. 4) mais on note une différence quantitative traduite par une densité plus faible de chacune des bandes estérasiques (F+M) de *T. mossambica* par rapport aux 2 bandes du mélange.

Les estérases des *T. mossambica* étudiés pourraient donc être déterminées par deux allèles codominants Es^M et Es^F , les proportions phénotypiques constatées étant sur 25 individus de 16 Es^M , 7 Es^F Es^M et 2 Es^F .

4. REMERCIEMENTS. Nous remercions ici MM. JALABERT et CHEVASSUS du Laboratoire de Physiologie Animale de l'I.N.R.A. à Jouy-en-Josas grâce à qui les prélèvements de sang sur les *Tilapia* ont pu être réalisés.

Manuscrit reçu au S.C.D. le 8 décembre 1974.

BIBLIOGRAPHIE

- BARON (J. C.), 1972. — Note sur un nouvel appareil d'électrophorèse horizontale pour gel d'amidon. *Cah. O.R.S.-T.O.M., sér. Océanogr.*, vol. X, n° 3 : 251-262.
- BADAWI (H. K.), 1971. — Electrophoretic studies of serum proteins of four *Tilapia* species (Pisces). *Marine Biology*, 8 : 96-98.
- BADAWI (H. K.), 1971. — A comparative study of the blood of four *Tilapia* species (Pisces). *Marine Biology*, 8, 202-204.
- CHEN (F. Y.), TSUYUKI (H.), 1970. — Zone electrophoretic studies on the proteins of *Tilapia mossambica* and *T. hornorum* and their F1 hybrids, *T. zillii* and *T. melanopleura*. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 27, 12 : 2167-2177.
- EZZAT (A. A.), SHABANA (M. B.), FARGHALY (A. M.), 1974. — Studies on the blood characteristics of *Tilapia zillii* (Gervais) I. Blood cells. *J. Fish. Biol.*, 6 : 1-12.
- ILES (T. D.), HOWLETT (C. J.), 1967. — Electrophoretic analysis of blood of *Tilapia leucostica* Trewavas and *Tilapia zillii* (Gervais) from Lake Victoria. East African Freshwater Fisheries Research Organization, Annual Report for 1967 : 64-72.
- LANZING (W. J. R.), BOWER (C. C.), 1974. — Development of colour patterns in relation to behaviour in *Tilapia mossambica* (Peters). *J. Fish. Biol.*, 6 : 29-41.
- MALECHA (R. S.), ASHTON (G. C.), 1968. — Inbreeding in fresh water fish populations using transferrins and estérases as markers. XI European conf. An. Blood grps and bioch. polymorphism. Warsaw, 1968 : 523-526.