



# Polymorphisme biochimique de la palourde, *Venerupis decussata*, de l'étang du Prévost (France)

Polymorphisme biochimique  
Hétérozygotie  
Mollusque  
Bivalve

Biochemical polymorphism  
Heterozygosity  
Mollusca  
Bivalvia

J. Worms <sup>a</sup>, N. Pasteur <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire d'Hydrobiologie marine,

<sup>b</sup> Institut des Sciences de l'Évolution, Section de Génétique,  
Université de Montpellier II, Place E.-Bataillon, 34060 Montpellier, France.

Reçu le 7/1/82, révisé le 30/4/82, accepté le 10/5/82.

## RÉSUMÉ

L'électrophorèse sur gel d'amidon d'extraits de muscle et d'hépatopancréas de palourdes (*Venerupis decussata*) a permis d'étudier le polymorphisme au niveau de 16 locus enzymatiques. Le taux d'hétérozygotie moyen est de 0,277 et le taux de polymorphisme de 83 %.

*Oceanol. Acta*, 1982, 5, 4, 395-397.

## ABSTRACT

Biochemical polymorphism of *Venerupis decussata* (Mollusca, Bivalvia) in a lagoon from Southern France.

Starch gel electrophoresis of *Venerupis decussata* muscle and hepatopancreas homogenates enabled polymorphism to be scored at 16 loci. The mean heterozygosity was 0.277 and 83 % of the loci were polymorphic.

*Oceanol. Acta*, 1982, 5, 4, 395-397.

## INTRODUCTION

Dans le cadre d'un programme de recherche sur la variabilité et la différenciation génétique des espèces laguno-marines susceptibles de faire l'objet d'élevage, nous avons entrepris d'analyser le polymorphisme génétique d'une population de palourdes (*Venerupis decussata* = *Tapes decussatus*). Nous décrivons ici la variabilité observée au niveau de 29 locus codant des enzymes.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les palourdes faisant l'objet de ce travail ont été récoltées sur l'étang du Prévost (Hérault) à l'aide d'une drague à coquille mise en œuvre à partir d'un radeau flottant.

Nous avons ramené au laboratoire 48 individus et prélevé sur chacun une partie de la masse musculaire et de l'hépatopancréas qui ont été broyés séparément, centrifugés, puis stockés à - 80 °C jusqu'au moment de

l'électrophorèse. Les protéines de ces extraits ont été séparées par électrophorèse en gel d'amidon à 12 % dans des systèmes de solutions tamponnées appropriées. Cinq sortes de systèmes d'électrophorèse ont été utilisés (tableau) : les systèmes TEB 8,6, TC 8,0 et TM 7,4 sont respectivement décrits par Selander *et al.*, (1971) sous les noms de « Tris-versene-borate », « continuous-tris-citrate II » and « Tris-maleate »; TM 6,9 a la même composition que TM 7,4 mais est à pH 6,9 au lieu de 7,4; le système Hist 5,5 correspond à une solution de gel comportant 0,005 M d'histidine HCl et à une solution d'électrode comportant 0,41 M d'acide citrique (ces deux solutions étant ajustées à pH 5,5 avec du Na OH 4N).

Les glutamate-oxaloacétate-transaminases,  $\alpha$ -glycérophosphate et malate-déshydrogénases, enzymes maliques, indophénol-oxidases, phosphoglucomutase et phosphoglucoisomerase ont été révélées selon les techniques décrites par Selander *et al.* (1971); les leucine-aminopeptidases selon la technique de Pasteur (1975) et la nucléoside-phosphorylase ainsi que la glyoxalase selon les techniques de Harris et Hopkinson

Tableau  
Polymorphisme de divers locus codant des enzymes chez *Venerupis decussata*.  
*Polymorphism of enzymatic loci in Venerupis decussata.*

Enzymes	Locus	Tissus <sup>1)</sup>	Systèmes <sup>2)</sup> d'électrophorèse	Échantillon	Fréquences alléliques <sup>3)</sup>	Hétérozygotie
Estérases	Est-A1	H	TEB 8,6	47	100 = 1,000	0
	Est-M	M	TM 7,4	43	115 = 0,284; 100 = 0,511; 90 = 0,091; 70 = 0,079 65 = 0,034.	0,643
Glyoxalase	Glo	M	TC 8,0	46	135 = 0,076; 100 = 0,924	0,141
Glutamate-oxaloacétate-transaminase	Got 2	M	TC 8,0	47	100 = 1,000.	0
$\alpha$ -glycérophosphate-déshydrogénases	$\alpha$ -Gpd-1	H	TM 6,9	47	110 = 0,011; 100 = 0,936; 90 = 0,053.	0,121
	$\alpha$ -Gpd-2	H	TM 6,9	47	120 = 0,091; 100 = 0,909.	0,166
Indophénol-oxidase	Ipo-1	M	TC 8,0	46	100 = 1,000.	0
Leucine-amino-peptidases	Lap-1	H	Hist 5,5	45	115 = 0,284; 100 = 0,511; 90 = 0,091; 70 = 0,114	0,637
	Lap-2	M	TEB 8,6	47	120 = 0,064; 100 = 0,362; 80 = 0,532; 60 = 0,043	0,580
Malate-déshydrogénases	Mdh-1	M	TC 8,0	47	120 = 0,011; 100 = 0,830; 85 = 0,149; 75 = 0,011	0,289
	Mdh-2	M	TC 8,0	46	130 = 0,011; 120 = 0,022; 100 = 0,967.	0,064
Malique-enzyme	Me-2	M	TC 8,0	46	100 = 0,739; 80 = 0,261.	0,386
Nucléoside-phosphorylase	Np	H	TEB 8,6	47	100 = 1,000.	0
Phosphogluco-isomérase	Pgi	M	TC 8,0	47	150 = 0,127; 125 = 0,266; 110 = 0,021; 100 = 0,511 80 = 0,043; 70 = 0,011; 60 = 0,021.	0,649
Phosphogluco-mutases	Pgm-1	M	TC 8,0	32	100 = 0,781; 90 = 0,259.	0,323
	Pgm-2	M	TC 8,0	47	120 = 0,309; 100 = 0,691.	0,427

1) Tissus où le locus a été étudié : H = hépatopancréas, M = muscle; 2) Systèmes d'électrophorèse donnant la meilleure résolution des zymogrammes; 3) Les allèles sont désignés par les chiffres précédant les signes « égal ».

1) *Tissues in which the loci have been studied* : H = *hepatopancreas*, M = *muscle*; 2) *Electrophoresis buffer systems giving the best zymograms*; 3) *Alleles are designated by the numbers preceding the "equal to" signs.*

(1976). Les estérases ont été révélées en incubant les gels dans 50 ml d'une solution phosphate 0,1 M (pH 6,5) contenant 1 ml de solutions à 1 % dans l'acétone de divers esters. Les esters testés comprennent l'acétate de fluoroscéine, divers esters du 4-méthyl-umbellyférol (acétate, propionate, butyrate) et du naphthol (acétate, propionate, butyrate). Les estérases hydrolysant les esters du naphthol ont été visualisées par addition de 50 mg de Fast Garnett GBC, les autres estérases en exposant les gels à une lumière ultraviolette (fluorescence).

## RÉSULTATS

Parmi les 23 systèmes enzymatiques testés, cinq n'ont montré aucune activité chez les *Venerupis decussata* de l'étang du Prévost (phosphatase acide, guanine-déaminase,  $\alpha$ -hydroxy-acide-oxidase, isocitrate-déshydrogénase et lactate-déshydrogénase). Six autres présentaient des zymogrammes trop diffus pour être interprétés génétiquement (adenylate-kinase, phosphatase alcaline, glucose-6-phosphate-déshydrogénase, 6-phosphogluconate-déshydrogénase, pyruvate-kinase et sorbitol-déshydrogénase); néanmoins, les grandes variations observées dans les mobilités électrophorétiques suggèrent que les locus codant ces systèmes sont polymorphes.

Les douze dernières catégories d'enzymes, ont permis d'identifier un total de 23 locus dont 7 (6 polymorphes : Est-A2, Est-A3, Got-1, Ipo-2, Lap-3 et Me-1, et 1 monomorphe : Pgm-3) n'ont pas pu être analysés en détail parce que leur activité était trop faible. Parmi les

16 autres locus, 4 seulement se sont révélés monomorphes (tableau). Le taux de polymorphisme chez *Venerupis decussata* est donc de 83 % avec un intervalle de confiance compris entre 64 et 94 %.

Le taux d'hétérozygotie calculé sur les 16 locus décrits dans le tableau peut être estimé à 0,277 et le nombre moyen d'allèles par locus à 2,75. Notons que ces deux dernières estimations du polymorphisme correspondent à des valeurs minimales du fait qu'ont été pris en considération 4 des 5 locus monomorphes et seulement 12 des 24 locus polymorphes.

Parmi les systèmes enzymatiques étudiés, deux méritent une attention particulière, car l'identification des locus observés sur les différents zymogrammes a fait l'objet d'une mise au point de techniques spéciales. Ce sont les estérases et les leucine-amino-peptidases.

Les estérases sont particulièrement abondantes dans l'hépatopancréas où au moins trois locus sont actifs et produisent des isozymes capables d'hydrolyser tous les substrats testés. Un de ces locus, Est-A1, est monomorphe, alors que les autres, Est-A2 et Est-A3, sont très polymorphes et montrent des variations d'activité très importantes dont nous n'avons pas pu déterminer l'origine. Dans le muscle, au contraire, aucune activité estérasiqne n'a été révélée avec l' $\alpha$ - ou le  $\beta$ -naphthyl acétate ou l'acétate de fluoroscéine, mais on a pu mettre en évidence l'activité d'un locus, Est-M, qui code des allozymes utilisant spécifiquement le 4-méthyl-umbelliféryl acétate et possédant une structure dimérique (hétérozygotes à trois isozymes). Il semblerait qu'il existe un léger déficit des hétérozygotes les plus fréquents (Est-M<sup>115/110</sup>) au locus Est-M; cependant ce déficit n'est pas statistiquement significatif.

Les leucine-aminopeptidases sont très actives dans le muscle et l'hépatopancréas. Le locus Lap-2 est le seul actif dans le muscle; il possède quatre allèles (bien séparés en système d'électrophorèse TEB 8,6) et les fréquences génotypiques sont proches de l'équilibre de Hardy Weinberg. Dans l'hépatopancréas, trois locus peuvent être mis en évidence, mais un seul, le plus rapide (Lap-1) a pu être analysé (Lap-2 présente une activité trop importante et Lap-3 une activité trop faible). Le locus Lap-1 ségrège pour quatre allèles (bien séparés en système d'électrophorèse Hist 5,5), et il existe un excès (non significatif statistiquement) des hétérozygotes les plus fréquents (Lap-1<sup>100/115</sup>).

## DISCUSSION ET CONCLUSION

La population de *Venerupis decussata* de l'étang du Prévost s'est révélée extrêmement polymorphe. Le taux d'hétérozygotie ( $H = 0,277$ ), bien qu'étant sous-estimé, se trouve être supérieur à tous les taux d'hétérozygotie enregistrés jusqu'à présent chez les lamelli-branches. Ainsi, chez *Tridacna maxima*  $H = 0,220$  (Ayala *et al.*, 1973; Campbell *et al.*, 1975), chez *Crassostrea gigas* et *Saccostrea commercialis*  $H = 0,20 - 0,22$ ,  $H = 0,17 - 0,19$  respectivement (Buroker *et al.*, 1979). D'un point de vue écologique, l'étang du Prévost constitue un milieu relativement hétérogène subissant l'influence de la mer sur laquelle il est largement ouvert. Il sera intéressant, dans le futur, d'élargir l'étude à des populations vivant dans des milieux écologiques différents tels par exemple des populations d'étangs sans communication directe avec

la mer et des populations marines. Ces études permettront de voir si le polymorphisme a tendance à diminuer dans des populations fermées et de là de prévoir l'évolution du polymorphisme lors de l'acclimatation de populations à des conditions d'élevage intensif.

## Remerciements

Les auteurs remercient Mme J. Catalan pour son aide lors des électrophorèses ainsi que les Professeurs M. Amanieu et L. Thaler qui ont accepté de relire leur manuscrit.

## RÉFÉRENCES

- Ayala F.J., Hedgecock D., Zumwalt G.S., Valentine J.W., 1973. Genetic variation in *Tridacna maxima*, an ecological analog of some unsuccessful evolutionary lineages, *Evolution*, 22, 2, 177-191.
- Buroker N.E., Hershberger W.K., Chew K.K., 1979. Population genetics of the family Ostreidae. II. Interspecific studies of the genera *Crassostrea* and *Saccostrea*, *Mar. Biol.*, 54, 2, 157-169.
- Campbell C.A., Valentine J.W., Ayala F.J., 1975. High genetic variability in a population of *Tridacna maxima*, *Mar. Biol.*, 33, 341-345.
- Harris H., Hopkinson D.A., 1976. *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics*, North-Holland Publ. Co., Amsterdam, Netherlands.
- Pasteur N., 1975. Les leucine-amino-peptidases du moustique *Culex pipiens*: génétique formelle d'un locus chez l'imago, *C.R. Acad. Sci., Paris*, 280, 113-116.
- Selander R.K., Smith M.H., Yang S.Y., Johnson W.E., Gentry J.B., 1971. *Biochemical polymorphism in the genus Peromyscus*. I. Variation of the old-field mouse (*Peromyscus polionotus*), *Studies in Genetics*, Univ. Texas Publ. No. 7103, 49-90.