

Variabilité morphométrique et génétique des espèces de *Clarias* utilisées en pisciculture dans la zone périurbaine de Bamako

Diop Ramata, Konaté Adama, Traoré Diakaridia, Sanogo Youssoufi, Camara Mamadou.

Faculté des Sciences et Techniques (FST) de l'Université des Sciences et Techniques et des Technologies des Bamako (USTTB), Laboratoire de Recherche en Microbiologie et Biotechnologie Microbienne.

Bp :E3206 /Tél :(223) 20-22-32-44 FAX :(223) 20-23-81-68

Auteur correspondant, E-mail : diopramata@yahoo.com Tél : 74-19-16-61

RESUME : La présente étude est portée sur la variabilité morphométrique et génétique des espèces de *Clarias* utilisées en pisciculture dans la zone périurbaine de Bamako de novembre 2016 à mars 2017. Des enquêtes ont été effectuées dans des fermes piscicoles pour identifier les espèces de *Clarias* et de procéder aux mensurations sur 174 spécimens récoltés. Des analyses génétiques ont été effectuées sur 60 spécimens avec deux marqueurs microsatellites pour explorer la diversité génétique des spécimens collectés. Deux espèces de *Clarias* sont identifiées dans les exploitations piscicoles explorées. Il s'agit de *Clarias anguillaris* et *Clarias* sp. Une différence significative a été observée sur certaine variable longueur de la tête, diamètre de l'œil, longueur pré-anal, longueur pré-pelvienne et hauteur du pédoncule caudale, entre les deux espèces. Ces paramètres sont plus importants chez *Clarias* sp que chez *Clarias anguillaris*. Six allèles ont été observés à partir des deux marqueurs microsatellites avec un taux d'hétérozygotie variant entre 0,60 et 0,66 et un PIC de 0,53 à 0,58 attestant une diversité au sein des deux espèces.

Mots clés : *Clarias*, pisciculture, variabilité morphométrique, diversité génétique, Mali.

ABSTRACT: The present study focuses on the morphometric and genetic variability of *Clarias* species used in fish farming in the peri-urban area of Bamako from November 2016 to March 2017. Surveys were carried out on fish farms to identify *Clarias* species and to measure 174 specimens harvested. Surveys were carried out on fish farms to identify *Clarias* species and to measure 174 specimens. Genetic analyzes were performed on 60 specimens with two microsatellite markers to explore the genetic diversity of the collected specimens. Two species of *Clarias* are identified in the fish farms explored. These are *Clarias anguillaris* and *Clarias* sp.

A significant difference was observed on some variable head length, eye diameter, pre-anal length, pre-pelvic length and caudal peduncle height, between the two species. These parameters are more important in *Clarias* sp than in *Clarias anguillaris*. Six alleles were observed from both microsatellite markers with a heterozygosity rate ranging from 0.60 to 0.66 and an AUC of 0.53 to 0.58 indicating diversity within both species.

Key words: *Clarias*, fish farming, variability morphometric, diversity genetic periurban, Mali

1. INTRODUCTION

Les poissons du genre *Clarias* regroupent des poissons Siluriformes dulçaquicoles dont

certaines espèces sont utilisées en pisciculture.

Il s'agit de *Clarias gariepinus* et de *Clarias anguillaris*. Ces espèces sont utilisées à cause

de leur valeur marchande, leur grande résistance et leur stratégie d'adaptation aux milieux faiblement oxygénés (Geistdoerfer et Goyffon, 1991).

Dans les exploitations piscicoles au Mali, *Clarias anguillaris*, souche sauvage, est issu de la reproduction artisanale et proviendrait de la nature alors que *Clarias gariepinus* est reproduit artificiellement dans les écloseries modernes et serait une souche de bonne qualité. Avec l'augmentation de la demande des poissons, les pisciculteurs ont tendance à utiliser des souches améliorées ou à importer des souches dites de qualité mais les exploitations traditionnelles utilisent toujours les souches sauvages de *Clarias*.

La performance des souches locales permet d'éviter l'introduction des souches allochtones qui peuvent conduire à des invasions, problème qui demeure la deuxième cause de perte de biodiversité à l'échelle mondiale (Leppa Koski et Olenin, 2000) in Pascal et al (2009).

Le but de cette étude est d'identifier les espèces de *Clarias* utilisées dans les exploitations piscicoles dans la zone périurbaine de Bamako, à partir des caractères morphométrique et génétiques en vue de sauvegarder l'intégrité génétique de la population *Claridae*.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Echantillonnage

Cette étude a porté sur un total de 174 spécimens. L'échantillonnage a été fait à Kalaban, à Kalababougou, à Banco et à Baguineda dans la zone périurbaine de Bamako de novembre 2016 à mars 2017. Les fermes visitées ont été codées F1, F2, F3 et F4 et dans

chaque ferme les échantillons ont été prélevés dans les mêmes étangs.

La clef de détermination de Paugy et al. 2003 a permis d'identifier les espèces et un pied à coulisse de 20 cm gradué en 0,02 mm pour les mensurations.

Mesures morphométrique : Des mesures individuelles ont été effectuées sur chaque spécimen et sur 16 paramètres ci-après :

- longueur total (1) : distance horizontale de l'extrémité antérieure du museau à l'extrémité postérieure de la nageoire caudale ;
- longueur standard (2) : distance horizontale de l'extrémité antérieure du museau à la base (articulation) de la nageoire caudale ;
- hauteur du corps (3) : hauteur verticale maximale, nageoires non comprise ;
- longueur de la tête (4) : selon les familles, elle peut être la distance horizontale de l'extrémité antérieure du museau au bord postérieure de l'opercule ou la distance horizontale de l'extrémité antérieure du museau à la pointe postérieure de l'occiput ou au bord osseux de l'encoche ;
- longueur du museau(5) : distance horizontale de l'extrémité de la mâchoire supérieure au bord antérieur de l'œil ;
- diamètre de l'œil (6) : diamètre horizontale de l'œil longueur pré dorsale(7) : distance horizontale de l'extrémité antérieure du museau à l'articulation du premier rayon de la nageoire dorsale ;
- longueur pré anale (8) : distance horizontale de l'extrémité antérieure du museau à l'articulation du premier rayon de la nageoire anale ;

- longueur pré pectorale (9) : distance horizontale de l'extrémité antérieure du museau à l'articulation du premier rayon de la nageoire pectorale ;
- longueur pré pelvienne (précentrale) (10) : distance horizontale l'extrémité antérieure du museau à l'articulation du premier rayon de la nageoire pelvienne ;
- longueur de la base de la nageoire dorsale (11) : distance horizontale maximale mesurée entre les deux extrémités ;
- longueur de la base de la nageoire anale (12) : voir nageoire dorsale(11) ;
- longueur de la nageoire pectorale (13) : longueur depuis l'articulation du premier rayon jusqu'à l'extrémité du plus long rayon ;
- longueur de la nageoire pelvienne (ventrale) (14) : voir nageoire pectorale(13) ;
- hauteur du pédoncule caudal (15) : distance prise du bord postérieur de la nageoire anale(ou dorsale si celle-ci s'étant plus en arrière) à la base de la nageoire caudale ;
- longueur du pédoncule caudale(16) : hauteur verticale minimale du pédoncule caudal ;

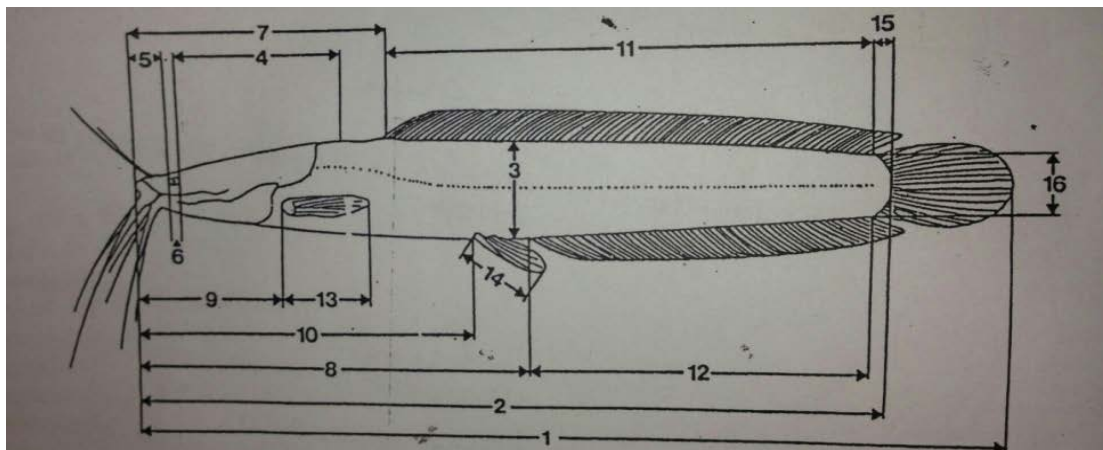


Figure 1 : Les mensurations effectuées sur un poisson siluriforme d'après Paugy et al (2003)

2.2. Analyse génétique

Deux marqueurs microsatellites, Cga01et Cga03 ont été choisis, parmi les sept marqueurs microsatellites utilisés par Galbusera et al, (1996) en raison de leur polymorphisme et leur

utilisation dans d'autres espèces de *Clarias* (Galbusera et al 1996), (Agnèse et al, 1997) et d'autres silures en général (Kotoulas et al., (1997).

Tableau 1: Les microsatellites (amorces), leur température d'hybridation et les différentes tailles

Loci	Séquences 5→3'	T°C d'hybridation	Taille
CGA01 F R	5'GGCTAAAGAACCTGTCTG3' 3'TACAGCGTCGATAAGCCAGG5'	58,3	163 137 106
CGA03 F R	5'CACTTCTTACATTTGTGCC3' 3'ACCTGTATTGATTTOTTGCC5'	54,3	132 112 95

Après chaque mensuration, un morceau de nageoire est prélevé et mis dans des tubes 1,5 ml codifié avec des numéros correspondants au spécimen puis conserver à 20°C pour les analyses au laboratoire.

Soixante échantillons sont traités puis utilisés pour les analyses moléculaires. L'ADN a été extrait suivant le protocole d'extraction selon Sambrook *et al.*, (1989) in Ndiaye (2012). La qualité de d'ADN extrait a été contrôlée par sa migration sur le gel d'agarose de 1%

L'ADN génomique a été amplifiés dans le Thermocycleur (TECHNE-PRIME) et dans un volume réactionnel final de 15µl contenant 4,2µl d'eau pure, 7,5µl de Go Taq Green Master Mix, 0,6µl de chaque amorce (allé et retour), selon un programme de température: 94°C pendant 5 min. de dénaturation initiale suivi de 35 cycles composés de 94°C pendant 1min., 55°pendant 45S, 72°C pendant 1 min 45S., 72°C pendant 10 min. d'élongation finale. Les produits de PCR

ont été migrés ou séparés sur un gel métaphore de 3% dans une cuve à électrophorèse remplie de tampon TBE 0,5X brancher à un générateur, pendant 2 heures 30 minutes à 90 volts. La révélation des bandes a été faite à l'aide de l'appareil E-Box après coloration au bromure d'éthidium sous UV.

2.3. Analyse des données

Les données morphométriques sont analysées au logiciel SAS pour les moyennes des mensurations. L'analyse de variance a été utilisée au seuil de 0,05%. Pour la détermination de la taille des allèles, les profils ont été analysés avec E-Capt. Les calculs de fréquences alléliques pour chaque locus sont effectués comme suit $F(A1)=N(A1)/N$ avec $F(A1)$: fréquence allélique de l'allèle A1, $N(A1)$: nombre total de L'allèle A1 et N : nombre total d'allèles pour le locus étudié. L'hétérozygotie et le PIC ont été calculés avec un logiciel PIC Calculator en ligne. L'analyse des données de la PCR-SSRs est faite avec le logiciel Darwin version 6 selon la méthode UPGMA.

3. RESULTATS

3.1. Les espèces des exploitations

Clarias anguillaris et *Clarias sp.* ont été identifiées dans les exploitations explorées. *C. anguillaris* a été rencontré dans toutes les

fermes par contre *Clarias sp.* n'a pas été trouvé dans la ferme F1. La fréquence était de 67,24% pour *Clarias. anguillaris* et 32,76% étaient des *Clarias sp.* (Tableau 2).

Tableau 2 : répartition des espèces échantillonnées dans les différentes fermes

Espèces	F1		F2		F3		F4		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Clarias anguillaris</i>	43	36,7	34	29,1	35	29,9	5	4,3	117	100
<i>Clarias sp</i>	0	0%	13	22,8	5	8,8	39	68,4	57	100
Total	43	24,8	47	27,0	40	22,9	44	25,3	174	100

F= ferme ; N = effectif ; % = pourcentage

3.2. Variabilité morphométrique

L'analyse de variance a montré une différence significative entre 5 caractères des espèces identifiées. Il s'agit de la longueur de la tête, du diamètre de l'œil, de la longueur pré-anale, de

la longueur pré-pelvienne et de la hauteur du pédoncule caudal (Tableau 3). Les variables calculées sont significativement plus importants chez *C. sp* que chez *C. anguillaris*.

Tableau 3 : les paramètres présentant des différences significatives chez les deux espèces à 5%.

Variabes	Espèces	N	Moyennes	F	Cœf Var
Lte	<i>C. anguillaris</i>	117	50,96±10,27	2,32	19,62
	<i>C. sp</i>	57	53,49±9,82		
D œil	<i>C. anguillaris</i>	117	3,52±0,74	3,02	109,66
	<i>C. sp</i>	57	5,28±1		
LPA	<i>C. anguillaris</i>	117	98,65±20,53	2,55	19,26
	<i>C. sp</i>	57	103,69±16,20		
LPP	<i>C. anguillaris</i>	117	36,56±8,79	7,83	24,42
	<i>C. sp</i>	55	40,79±10,03		
HPC	<i>C. anguillaris</i>	117	13,26±3,45	8,31	25,15
	<i>C. sp</i>	55	14,90±2,70		

Lte :Longueur de la tête ;D œil :Diamètre de l'œil ;LPA :Longueur pré-anal ,LPP :Longueur pré-pelvienne ;HPC :Hauteur du pédoncule caudale, N :Effectif.

3.3. Diversité génétique

Au total, 6 allèles et 6 profils génétiques ont été identifiés et le nombre d'allèle moyens est de 3 pour les deux marqueurs microsatellites. Le taux d'hétérozygotie a varié de 0,66 pour le marqueur CGA03 et

0,60 pour le marqueur CGA01 avec une moyenne de 0,32. Le polymorphisme information content (PIC) par marqueur microsatellite a varié entre 0,58 et 0,53 avec une valeur moyenne de 0,55. (Tableau 5)

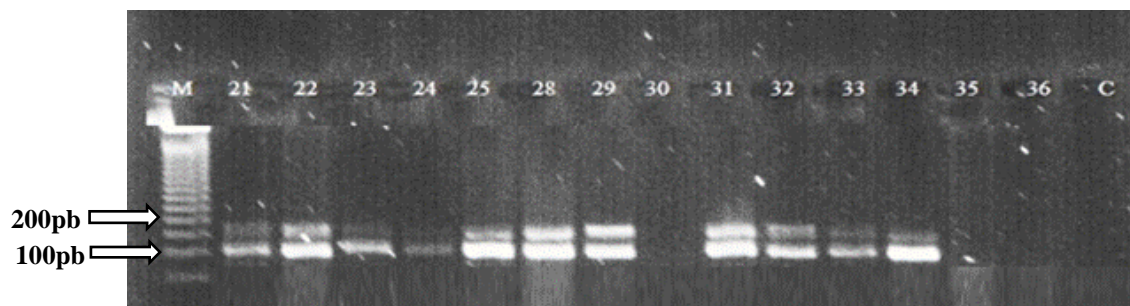


Figure 2 : Profils de migration des échantillons d'ADN de *Clarias anguillaris*, amplifiés avec le marqueur CGA03 sur gel Métaphore 3%. M : Marqueur, 21-36 : échantillon de *Clarias anguillaris* ;

Tableau 4 : fréquences alléliques, hétérozygotie, PIC obtenus avec les deux marqueurs microsatellites

Loci	Nombres d'allèles	Allèles (bp)	Fréquences alléliques	Hétérozygotie (He)	PIC
CGA03	3	163	0,35	0,66	0,58
		137	0,28		
		106	0,35		
CGA01	3	132	0,24	0,60	0,53
		112	0,21		
		95	0,53		
Total	6	745	1,61	1,26	1,11
Moyenne	3	124,16	0,32	0,63	0,55

L'analyse des données de la PCR-SSRs a permis de regrouper les génotypes en deux groupes (I, II). La classe I a été constituée de 56% de *Clarias anguillaris* et 44%

Clarias sp. Cette classe a été subdivisée en six sous-groupes (a, b, c, d, e, f). Les sous-groupes a, b, c,i ont été constitués uniquement de *Clarias anguillaris*(Couleur

bleu) et d,h par *Clarias sp*(Couleur rouge). La classe II a été formée par 54% *Clarias anguillaris* et de 46% *Clarias sp*. Elle a été subdivisée aussi en trois sous-groupes (g, h, i). Les sous-groupes e, f, g ont été constitués d'un mélange *Clarias anguillaris* et *Clarias sp*(Couleur verte) La répartition des génotypes en deux groupes montre une

diversité au des espèces. Ceux qui sont dans le même sous-groupe, sont génétiquement identiques. Les sous-groupes (e, f, g) qui sont composé de *Clarias anguillaris* et *Clarias sp* montre que ces deux espèces ont des allèles en commun.

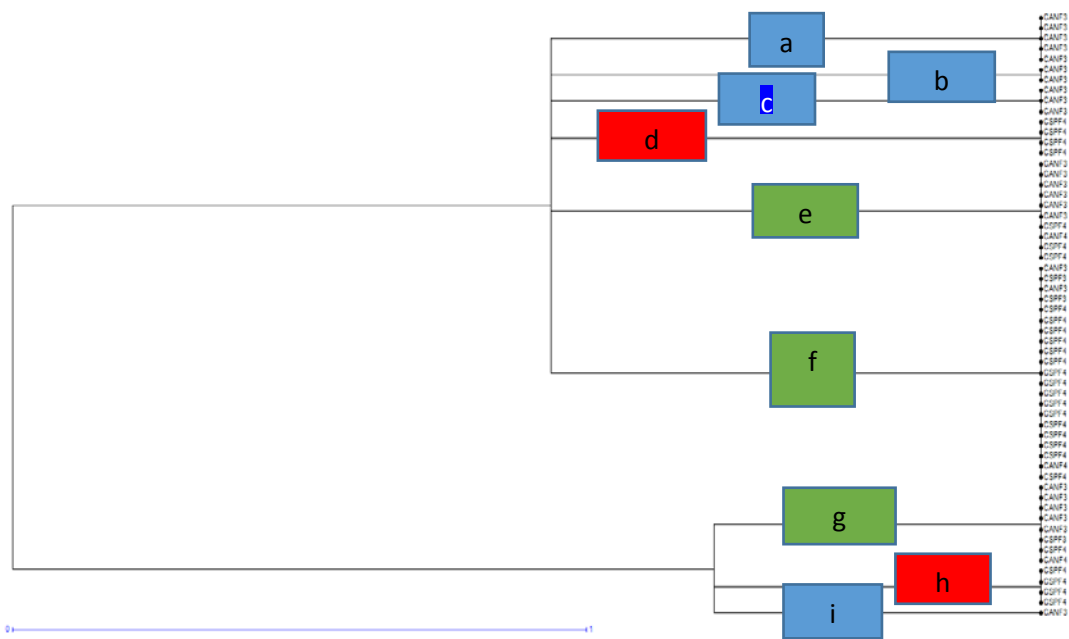


Figure 3 : Dendrogramme *Clarias anguillaris* et *Clarias sp*

4. DISCUSSION

Les deux espèces de *Clarias* identifiées présentent 5 paramètres morphométriques sur 16 statistiquement différents, soit 31,3%. Cela tend à prouver la présence de deux espèces piscicoles dans les fermes visitées

Cependant, l'exploration doit se poursuivre pour déterminer le statut *Clarias sp* car selon Garcia-Franco, (1993), l'identification d'une nouvelle espèce *Clarias* basé sur la morphologie est difficile à cause de valeurs

chevauchantes pour la plupart des traits. Les données de diversité génétique obtenues avec les deux marqueurs microsatellites n'ont pas permis d'obtenir une grande variabilité allélique au sein du genre et de séparer les espèces. La valeur d'hétérozygotie trouvée dans cette étude est différente de ceux trouvés par Agbebi *et al* (2012) qui ont eu 0,345 et 0,44 avec les mêmes marqueurs microsatellites sur *Clarias gariepinus* et *Heterobranchus bidorsalis*. Ce résultat peut s'expliquer par la différence des

espèces. Dans la présente étude, l'hétérozygotie est de 0,60 et 0,66 avec une valeur moyenne de 0,63. Le dendrogramme a montré une différence au sein des espèces et une similarité. Le même travail a été fait par Na-Nakorn et al(2002) et le dendrogramme a permis une séparation entre *Clarias batrachus* et *Clarias gariepinus* et a classé *Clarias sp.* dans le même groupe que *Clarias gariepinus*. Dans cette étude la similarité qui existe entre *Clarias anguillaris* et *Clarias sp* peut être expliquée par ce résultat du fait que *Clarias anguillaris* et *Clarias gariepinus* sont tous les deux dans le même sous genre *Clarias Clarias*.

5. CONCLUSION

Clarias anguillaris et *Clarias sp* sont identifiés dans les fermes prospectées. Les marqueurs microsatellites ont montré une diversité au sein des espèces. Un taux d'hétérozygotie de 0,60 et 0,66 avec une valeur moyenne de 0,63. Ces résultats offrent une première connaissance sur la variabilité morphométrique et génétique des espèces de *Clarias* utilisées en pisciculture dans la zone périurbaine de Bamako. L'étude morphométrique et génétique doit être poussée pour *Clarias sp*.

6. REFERENCES

- [1] Agbebi O. T., Ilaboya D. E., Adebambo A. O. 2012: Preliminary characterization of genetic strains in Clariid species, *Clarias gariepinus* and *Heterobranchus bidorsalis* using microsatellite markers: African Journal of Biotechnology Vol. 12(4), pp. 364-369.
- [2] Awa N.'D. 2012 : Réponses du *Tilapia Sarotherodon melanotheron* aux stress

multiples (salinité et contaminants chimiques) : approche multiparamétrique P : 1-226

- [3] Galbusera P., Volckerts F.A., Hellemans 1996: Isolation and characterization of microsatellite markers in the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchelle 1822):703-705.
- [4] Pascal F., Marc V., Alexis F. 2000 : Domestication de nouvelles espèces et développement durable de la pisciculture : 119-124
- [5] Na-Nakorn U., Hara M., Taniguchi M., Seki S., 1998. Isozymes variation of *Clarias macrocephalus* from four locations in Thailand. Fish.Sci.64(4),526-530
- [6] Yue G. H., Galbusera P. 2003: Microsatellites from *Clarias batrachus* and their polymorphism in seven Additional catfish species: 465-470