

## DÉNOMBREMENT DES CHROMOSOMES CHEZ QUELQUES CYPRINS <sup>1</sup>

PIERRE LEGENDRE <sup>2</sup> ET DAVID M. STEVEN

Department of Zoology, McGill University, Montréal

### Résumé

Pour déterminer le nombre chromosomique la méthode employée fut celle de McPhail et Jones (1966) modifiée de façon à augmenter le nombre de mitoses dans le tissu et à faire se contracter les chromosomes. Quarante-huit chromosomes (nombre somatique) furent trouvés chez *Exoglossum maxillingua*; 50 chez *Chrosomus eos*, *C. eos* x *C. neogaeus*, *Hybopsis plumbea* et *Semotilus margarita*; 52 chez *Pimephales notatus*, *S. atromaculatus* et *S. corporalis*.

### Abstract

Diploid chromosome numbers were studied by the technique of McPhail and Jones (1966) modified in such a way as to increase the number of mitosis in the tissue and to obtain sharper images. Forty-eight chromosomes (diploid number) were found in *Exoglossum maxillingua*; 50 in *Chrosomus eos*, *C. eos* x *C. neogaeus*, *Hybopsis plumbea*, and *Semotilus margarita*; 52 in *Pimephales notatus*, *S. atromaculatus*, and *S. corporalis*.

### Introduction

Les chromosomes des cyprins ont été surtout étudiés chez les espèces d'Europe et d'Asie (Matthey, 1949; Makino, 1951; Nogusa, 1960; Sharma, Parshad et Nayyar, 1960; Nayyar, 1962 et 1964; Post, 1965). Les auteurs (Post, 1965; Ohno, Wolf et Atkin, 1968) suggèrent que d'un nombre somatique de 48 chromosomes, certains groupes de cyprins en auraient obtenu 44, 46, 50, 52 ou 54, par bris ou par fusion de chromosomes, et de là 94, 96 ou 104 par polyploïdisation. Dans la tribu des Leuciscidi à laquelle appartiennent les espèces étudiées ici, la littérature ne mentionne, à notre connaissance, que les nombres chromosomiques de représentants de trois autres genres. Post (1965) rapporte que les genres *Leuciscus* et *Scardinius* portent un nombre somatique de 52 chromosomes. La seule mention nord-américaine que nous connaissions est celle de McPhail et Jones (1966) qui ont établi qu'un représentant du genre *Rhinichthys* a un nombre somatique de 50 chromosomes.

1. Partiellement tiré d'une thèse (Legendre, 1969).

2. Adresse actuelle : Department of Biology, University of Colorado, Boulder, Colorado 80302, U.S.A.

TABLEAU I  
Lieu d'origine des spécimens

Taxon	Date	Lieu d'origine	Coordonnées
<i>Chrosomus eos</i>	23 mai 1968	Lac Caché ou Parond, Québec	74°29'25"W, 46°05'42"N
	18 juin 1968	Lac Caché ou Parond, Québec	74°29'25"W, 46°05'42"N
<i>C. eos</i> x <i>C. neogaeus</i>	14 mai 1968	Lac Triton, Québec	74°00'21"W, 45°59'18"N
	28 mai 1968	Lac Eos, Ontario	78°21'35"W, 45°35'35"N
	28 mai 1968	Lac Amikeus, Ontario	78°30'55"W, 45°35'20"N
<i>Exoglossum maxillingua</i>	18 juin 1968	Rivière La Diabie, Québec	74°36'06"W, 46°07'05"N
<i>Hybopsis plumbea</i>	13 juin 1968	Lac Clarence Gagnon, Québec	71°31'53"W, 48°05'28"N
<i>Pimephales notatus</i>	18 juin 1968	Lac Duhamel, Québec	74°37'45"W, 46°08'17"N
<i>Semotilus atromaculatus</i>	14 mai 1968	Lac Triton, Québec	74°00'21"W, 45°59'18"N
	13 juin 1968	Lac Clarence Gagnon, Québec	71°31'53"W, 48°05'28"N
<i>S. corporalis</i>	12 juillet 1968	Lac Monroe, Québec	74°30'14"W, 46°19'24"N
<i>S. margarita</i>	13 juin 1968	Lac Clarence Gagnon, Québec	71°31'53"W, 46°05'28"N

Cette note s'adresse surtout aux biologistes de la faune qui, sans être des cytologistes experts, désirent procéder à des dénombrements de chromosomes. C'est pourquoi la méthode de travail est exposée en détail. Soulignons cependant que cette méthode permet seulement de dénombrer les chromosomes, et non de faire une étude complète du karyotype.

#### Matériel

Le lieu d'origine des spécimens étudiés constitue le tableau I. L'étude a porté sur des individus de 8 entités taxonomiques : 7 espèces et un hybride, appartenant à 5 genres. Les spécimens mesuraient de 3 à 15 cm environ.

#### Méthode

Quoique la méthode employée soit fondamentalement celle de McPhail et Jones (1966), qui utilise les cellules épithéliales des branchies bloquées en métaphase par l'injection de colchicine, il est utile d'en donner ici un résumé complet, tant elle a été modifiée. Les numéros 1, 2, 3, 7 et 10 portent sur les modifications, qui visent principalement à augmenter le nombre de mitoses dans le tissu et à faire se contracter les chromosomes. Les modifications 2, 7 et 10 ont été suggérées par le Dr F. M. Atton (*in litt.*) et mises au point dans le cadre de ce travail. Les étapes sont les suivantes :

- 1- Le spécimen est acclimaté à la température de la pièce. On choisit de préférence un jeune individu, chez lequel les divisions cellulaires sont plus fréquentes.
- 2- Le spécimen est placé pour 1 minute dans un bain bien aéré de formaline 1% V/V de la solution commerciale, dans le but d'irriter les branchies, afin d'induire des divisions cellulaires. Il faut cependant noter que certaines espèces ne tolèrent pas cette concentration de formaline. Dans ce cas, on peut réduire la concentration, ou encore éliminer l'opération et accroître à environ 4 heures la durée de l'opération # 5.
- 3- Le spécimen est anesthésié dans un bain bien aéré de MS-222 (Sandoz Pharmaceuticals, Division of Sandoz Canada Limited, Dorval) à une concentration de 0.5 gr : 4000 ml H<sub>2</sub>O. Cette opération est nécessaire, car sans elle plusieurs spécimens subissent, durant l'injection subséquente, un état de stress qui les tue.
- 4- 0.1 ml de colchicine à la concentration de 0.01 g : 100 ml H<sub>2</sub>O distillée est injecté dans la partie antérieure du dos. On peut augmenter la concentration jusqu'à 0.05 g : 100 ml H<sub>2</sub>O, sur des spécimens plus gros.
- 5- Le spécimen injecté est alors placé dans un bain bien aéré pour au moins 1 à 2 heures.
- 6- Le spécimen est anesthésié de nouveau, et le dernier arc branchial est prélevé des deux côtés.
- 7- Les arcs branchiaux sont dialysés pendant 30 minutes dans une solution hypotonique de KCl 0.075 M (0.56 g : 100 ml H<sub>2</sub>O distillée). Cette technique a, sur la simple

TABLEAU II

Résultats des dénombrements de chromosomes

Taxon	Nombre de lacs ou rivières	Nombre de mâles	Nombre de femelles	Nombre de figures comptées	Nombre chromosomique diploïde
<i>Chrosomus eos</i>	1	3	2	21	50
<i>C. eos</i> x <i>C. neogaeus</i>	3	4	3	23	50
<i>Exoglossum maxillingua</i>	1	— 2 —	—	15	48
<i>Hybopsis plumbea</i>	1	1	2	8	50
<i>Pimephales notatus</i>	1	0	2	6	52
<i>Semotilus atromaculatus</i>	2	3	2	10	52
<i>S. corporalis</i>	1	2	0	15	52
<i>S. margarita</i>	1	1	1	11	50

dialysation dans l'eau distillée, l'avantage de produire des métaphases plus faciles à compter, en faisant se contracter davantage les chromosomes et en augmentant leur capacité d'absorption du colorant (Hungerford, 1965).

8- Les arcs branchiaux sont ensuite fixés et colorés, pendant 15 minutes, dans de l'acéto-orcène fraîche et filtrée sur papier très fin, spécialement fait pour les précipités cristallins (Darlington et La Cour, 1962).

9- Les arcs branchiaux sont frottés légèrement sur une lame de verre à microscopie propre, jusqu'à ce qu'une mince couche de cellules épithéliales se soient déposées sur la lame. Enlever toute pièce de tissu visible à l'oeil nu.

10- La préparation doit être couverte immédiatement d'une lamelle, la plus mince possible; puis elle est placée dans une serviette de papier brun repliée et pressée manuellement sous une pression d'environ 10 lbs/cm<sup>2</sup>. La serviette de papier absorbera le surplus de colorant.

11- La préparation est alors scellée à la paraffine et entreposée au réfrigérateur. Ces préparations non permanentes se conserveront ainsi deux à trois semaines.

12- L'examen doit se faire à l'aide d'un microscope à contraste de phase. Il est nécessaire de faire un schéma des métaphases observées, puis de dénombrer les chromosomes sur le schéma, à cause du nombre élevé de chromosomes présents chez les cyprins. Il est aussi nécessaire d'effectuer le comptage sur un bon nombre de cellules pour établir le nombre exact de chromosomes. Souvent, les métaphases sont incomplètes ou manquent de clarté.

#### Résultats et discussion

109 cellules en métaphase ont été étudiées sur 28 spécimens, tel que l'indique le tableau II. Les nombres somatiques de chromosomes trouvés sont : 48, 50 et 52.

Signalons que le *Semotilus margarita* porte 50 chromosomes dans ses cellules somatiques. Ce nombre diffère de celui des deux autres espèces de *Semotilus* étudiées ici ( $2n = 52$ ).

Nous connaissons maintenant les nombres chromosomiques de représentants de 8 genres de cyprins de la tribu des Leuciscidi. Un inventaire plus complet des nombres chromosomiques permettra sans doute de renforcer les hypothèses sur la phylogénie de ce groupe.

#### Remerciements

Nous tenons à remercier le Dr F. M. Atton, Chief Biologist, Saskatchewan Fisheries Laboratory, pour ses suggestions quant aux méthodes à employer dans le dénombrement des chromosomes.

Ce travail a été rendu possible grâce à une subvention du Conseil National de Recherches du Canada au Dr D. M. Steven (no A-2598).

## Références

- DARLINGTON, C. D. and L. F. LA COUR, 1962. The handing of chromosomes. George Allen & Unwin Ltd, London. 263 pages.
- HUNGERFORD, David A., 1965. Leukocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl. *Stain Technol.*, 40 : 333-338.
- LEGENDRE, Pierre, 1969. Two natural hybrids of the cyprinid fish *Chrosomus eos*. M. Sc. thesis, Department of Zoology, McGill University, Montréal. 115 pages.
- MAKINO, Sajiro, 1951. An atlas of the chromosome numbers in animals. Second Edition. The Iowa State College Press, Ames, Iowa. 290 pages.
- MATTHEY, Robert, 1949. Les chromosomes des vertébrés. Librairie de l'Université, F. Rouge-Lausanne. 356 pages.
- MCPHAIL, J. D. and R. L. JONES, 1966. A simple technique for obtaining chromosomes from teleost fishes. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 23 (5) : 767-769.
- NAYYAR, R. P., 1962. Karyotype studies in two cyprinids. *Cytologia*, 27 : 229-231.
- NAYYAR, R. P., 1964. Karyotype studies in seven species of cyprinidae. *Genetica*, 35 : 95-104.
- NOGUSA, S., 1960 A comparative study of the chromosomes in fishes. *Mem. Hyogo Univ. of Agric.*, 3 (1) : 1-62.
- OHNO, Susumu, Ulrich WOLF and Niels B. ATKIN, 1968. Evolution from fish to mammals by gene duplication. *Hereditas*, 59 (1) : 169-187.
- POST, A., 1965. Vergleichende Untersuchungen der Chromosomenzahlen bei Süßwasser-Teleostern. *Z. zool. Syst. Evolutionsforsch.*, 3 : 47-93.
- SHARMA, G. P., R. PARSHAD and R. P. NAYYAR, 1960. Chromosome number and meiosis in three species of fishes. *Res. Bull. Punjab Univ.*, 11 : 99-103.