

Différenciation génétique de quelques populations de Chrysichthys nigrodigitatus et de C. johnelsi (Pisces, Bagridae) de Côte d'Ivoire et du Mali

Jean-François AGNÈSE (1), Nicole PASTEUR (1),
Christian LÈVÈQUE (2)

RÉSUMÉ

Le polymorphisme de 19 locus codant pour des enzymes a été étudié dans six populations de *Chrysichthys nigrodigitatus* Lacépède 1803 (Pisces, Bagridae), espèce utilisée en aquaculture africaine, et une population de *Chrysichthys johnelsi* Daget 1959. La population de *C. nigrodigitatus* du bassin du Niger (Bamako, Mali) est nettement différenciée des populations des bassins du Sassandra, du Bandama, de la Comoé et des lagunes Ébrié et Aby, en Côte d'Ivoire ($0,233 < D < 0,266$). Étant donné la grande répartition géographique de *C. nigrodigitatus*, qui s'étend de l'Angola au Sénégal, ces résultats laissent penser que l'espèce présente une forte différenciation génétique que l'on pourrait mettre à profit dans un programme d'amélioration génétique en aquaculture. Les échantillons des lagunes Ébrié et Aby (Côte d'Ivoire) présentent les taux de polymorphisme les plus importants ($H = 4,5\%$ et $H = 6,3\%$ respectivement), et l'analyse des facteurs qui en sont responsables pourrait faire progresser les techniques d'élevage. L'échantillon de *C. johnelsi* présente également un polymorphisme et cette espèce, proche de *C. nigrodigitatus*, pourrait être utilisée pour obtenir des hybrides ou des lignées gynogénétiques.

MOTS-CLÉS : Afrique — Poissons — Bagridae — *Chrysichthys nigrodigitatus* — *C. johnelsi* — Polymorphisme enzymatique — Biogéographie — Aquaculture.

ABSTRACT

GENETIC DIFFERENTIATION BETWEEN SOME POPULATIONS OF *CHRYSICHTHYS NIGRODIGITATUS* AND *C. JOHNELSI* (PISCES, BAGRIDAE) FROM IVORY COAST AND MALI

Nineteen loci coding for enzymes were studied in six populations of *Chrysichthys nigrodigitatus* Lacépède 1803 (Pisces, Bagridae), which is used in African aquaculture, and in a population of *Chrysichthys johnelsi* Daget 1959. The population of *C. nigrodigitatus* from Niger is strongly differentiated from those of the other rivers ($0,233 < D < 0,266$). Due to the large geographic range of *C. nigrodigitatus* (from Angola to Senegal), these observations suggest that *C. nigrodigitatus* is genetically highly variable and that this variability could be utilized in selection programmes. Samples from Ebrié and Aby lagoon (Ivory Coast) display the largest polymorphism ($H = 4.5\%$ and $H = 6.3\%$ respectively). The knowledge of the phenomena which allow the maintenance of this polymorphism will be very useful for the improvement of rearing conditions.

KEY WORDS : Africa — Fishes — Bagridae — *Chrysichthys nigrodigitatus* — *C. johnelsi* — Enzymatic polymorphism — Biogeography — Aquaculture.

(1) Institut des Sciences de l'Évolution (URA 87, CNRS), laboratoire de Génétique, U.S.T.L., 34095 Montpellier cedex 2.

(2) Hydrobiologiste ORSTOM, laboratoire d'Ichtyologie du Muséum national d'Histoire naturelle, 43 rue Cuvier, 75231 Paris cedex 05, France.

INTRODUCTION

Les espèces du genre *Chrysichthys*, et plus spécialement *C. nigrodigitatus*, sont l'objet de recherches dans le but d'une domestication (HEM, 1986). Après un premier stade qui consiste à maîtriser les problèmes de maintien en captivité, de grossissement et de reproduction des poissons, les aquaculteurs manifestent le désir d'augmenter le rendement de leurs productions en obtenant des poissons plus féconds, plus résistants au stress et aux maladies, et qui grossissent plus vite. Cette deuxième phase correspond à un programme d'amélioration génétique par sélection artificielle des populations (ou des stocks au sens halieutique du terme). Le choix de la ou des populations à sélectionner doit s'appuyer sur une bonne connaissance de la variabilité des populations sauvages de l'espèce qui sont susceptibles de posséder des caractéristiques physiologiques différentes. La connaissance des espèces apparentées à l'espèce « domestiquée » est également importante car ces dernières peuvent être utilisées pour obtenir des hybrides aux caractéristiques intéressantes (taux de croissance élevés, résistance aux maladies, ...), des gynogénèses hybrides (MAKÉVA, 1975), ou bien encore des populations monosexes ou stériles (CHEVASSUS, 1983, CHOURROUT, 1986).

L'utilisation de l'électrophorèse enzymatique est une technique très efficace pour mettre en évidence et évaluer la variabilité génétique d'une espèce. Elle a souvent été utilisée pour l'étude des poissons (ALLENORF ET UTTER, 1979, SHAKLEE, 1983). L'objet de ce travail est de caractériser la variabilité génétique des populations de *C. nigrodigitatus* de Côte d'Ivoire et du Mali, et de *C. johnelsi*, espèce proche de la précédente (RISCH, 1986), que l'on trouve en Côte d'Ivoire (dans le Cavally). Il constitue la première phase d'un programme d'amélioration génétique.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Six échantillons de *Chrysichthys nigrodigitatus* ont été analysés, cinq provenant de la Côte d'Ivoire (échantillon (1) du bassin du Sassandra (N'zi à Guiglo) comprenant 17 individus; échantillon (2) du bassin du Bandama (N'zo à Taabo) comprenant 21 individus; échantillon (3) de la lagune Ébrié (N'djen) comprenant 48 individus; échantillon (4) de la Comoé (route d'Abengourou) comprenant 8 individus; échantillon (5) de la lagune Aby comprenant 33 individus) et un du Mali (échantillon (6) du Niger (Bamako) comprenant 14 individus). Un échantillon (7), comprenant 18 individus de *Chrysichthys*

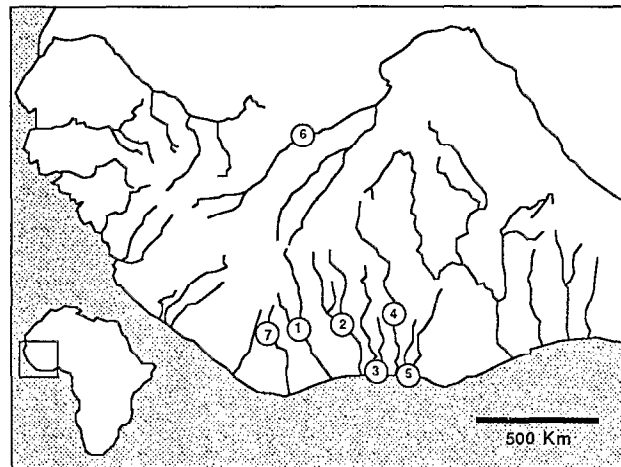


FIG. 1. — Lieux de capture de *C. nigrodigitatus* : (1) N'zi à Guiglo (bassin du Sassandra), (2) N'zo à Taabo (bassin du Bandama), (3) lagune Ébrié à Jacquville, (4) Comoé près de la route d'Abengourou, (5) lagune Aby (au centre), (6) Niger à Bamako; et de *C. johnelsi* : (7) Cavally à G'benda

Localities of capture for *C. nigrodigitatus* : (1) N'zi at Guiglo (drainage basin of Sassandra), (2) N'zo at Taabo (drainage basin of Bandama), (3) Ébrié lagoon at Jacquville, (4) Comoé near the Abengourou road, (5) Aby lagoon (in its center), (6) Niger at Bamako; and *C. johnelsi* : (7) Cavally at G'benda

johnelsi en provenance du Cavally (G'benda) a été également étudié (fig. 1).

Chaque échantillon comprend des poissons dont la taille et le poids sont fort différents. Ces individus représentent un échantillon tiré au hasard de leur population d'origine.

Après leur capture, les poissons ont été disséqués et des morceaux de muscle squelettique et de foie ont été prélevés, puis stockés à -18°C (de quelques semaines à un an). L'étude électrophorétique sur gel d'amidon ou de polyacrylamide a été réalisée sur les protéines des broyats de ces organes selon les techniques décrites par PASTEUR *et al.* (1987). Quatre systèmes de tampons ont été utilisés pour les gels d'amidon : (a) PC 6,3 a servi à séparer les adénylate kinases (AK), les aspartate transaminases (Aat), les malate déshydrogénases (Mdh), les « nothing » déshydrogénases (Ndh), et les protéines non spécifiques (Pt), à partir du muscle squelettique; (b) TM 6,9 a été utilisé pour les estérases (Es), les glucose-phosphate isomérases (Pgi), et les phosphoglucomutases (Pgm) à partir du foie; (c) TC 6,7 a servi à analyser les glyoxalases (Glo), les isocitrate déshydrogénases (Idh), les lactate déshydrogénases (Ldh), les phosphogluconate déshydrogénases (Gpd) et les superoxide dismutases (Sod) à partir du foie; enfin (d) TG 8,5 a été utilisé pour séparer sur gel de polyacrylamide les amylases (Amy) à partir du foie.

La variabilité génétique a été évaluée par trois indices : a) le taux de polymorphisme (P), qui correspond au nombre de locus polymorphes par rapport au nombre de locus étudiés ; b) la diversité allélique (A), qui est le nombre moyen d'allèles par locus ; c) la diversité génétique moyenne (H) de Nei (1978), formule pour les petits échantillons $H = 2n(1 - \sum P_i^2)/(2n - 1)$ où n est le nombre d'individus étudiés, et P_i la fréquence de l'allèle i au locus étudié.

La divergence génétique entre les échantillons de *C. nigrodigitatus* et entre *C. nigrodigitatus* et *C. johnelsi* a été évaluée par deux méthodes : (a) une méthode phénétique utilisant l'indice de distance de Rogers (1972) dont la matrice a été traitée par le programme « FITCH » de J. Felsenstein (Department of Genetics, University of Washington, Seattle, Washington 98195) utilisant l'algorithme d'agglomération de FITCH et MARGOLISH (1967) ; (b) une méthode basée sur les principes de la cladistique à partir d'une matrice dans laquelle les allèles sont codés 1 s'ils sont présents et 0 s'ils sont absents dans l'échantillon étudié. Cette matrice a ensuite été traitée par le programme « CLIQUE » de J. Felsenstein qui utilise un algorithme de compatibilité (LE QUESNE, 1969, ESTABROOK, 1976).

RÉSULTATS

Description de la variabilité génétique

Les fréquences alléliques observées dans les échantillons ainsi que les indices relatifs au polymorphisme sont donnés dans le tableau I.

Chez *C. nigrodigitatus*, sur les 19 locus étudiés, 12 se sont révélés monomorphes pour le même allèle dans tous les échantillons. Ce sont : *Aat-2*, *Ak*, *Es-2*, *Glo*, *Idh-1*, *Ldh-1*, *Ldh-2*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Ndh*, *Gpd*, *Sod*. Le locus *Amy* est aussi monomorphe, mais il présente un allèle différent dans l'échantillon (6) du Niger (allèle 100 au lieu de 110). Les autres locus sont polymorphes dans au moins un échantillon, et nous avons vérifié que la distribution des génotypes à ces locus ne diffère pas de celle attendue sous l'hypothèse de la structure de Hardy-Weinberg dans chaque échantillon (X^2 alpha = 5%). L'allèle le plus commun au locus *Es-1* est l'allèle 100, sauf dans l'échantillon (6) du Niger où il est remplacé par l'allèle 95. On retrouve cet allèle 95 à des fréquences très faibles, seulement dans les échantillons (3) et (5) des lagunes Ébrié (4%) et Aby (3%). Enfin, cinq locus présentent un polymorphisme important : a) *Aat-1* avec deux allèles 100 et 105, l'allèle 105 ayant une fréquence de 5% et 8% dans les lagunes Ébrié (3) et Aby (5), respectivement ; b) *Idh-2* avec

TABLEAU I

Fréquences alléliques observées aux locus polymorphes pour les sept populations étudiées : *C. nigrodigitatus*, (1) Sassandra, (2) Bandama, (3) Lagune Ébrié, (4) Comoé, (5) lagune Aby, (6) Niger, *C. johnelsi* (7) Cavally. H = hétérozygotie, P = taux de polymorphisme, A = diversité allélique. H, P et A sont les indices moyens tenant compte des 12 locus monomorphes pour les mêmes allèles dans tous les échantillons analysés
Allelic frequencies observed at polymorphic loci in seven populations : *C. nigrodigitatus*, (1) Sassandra, (2) Bandama, (3) Lagune Ébrié, (4) Comoé, (5) lagune Aby, (6) Niger, *C. johnelsi* (7) Cavally. H = heterozygosity, P = proportion of polymorphic loci allelic diversity. H, P and A are the mean values, including loci that are monomorphic for all samples

Locus	Allèles	<i>C. nigrodigitatus</i>						<i>C. johnelsi</i>
		(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
<i>Aat-1</i>	100	1.00	1.00	0.95	1.00	0.92	1.00	1.00
	105	---	---	0.05	---	0.08	---	---
<i>Amy</i>	100	---	---	---	---	---	1.00	---
	110	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	---	1.00
<i>Es-1</i>	95	---	---	0.04	---	0.03	1.00	---
	100	1.00	1.00	0.96	1.00	0.97	---	---
	110	---	---	---	---	---	---	1.00
<i>Idh-2</i>	70	---	---	---	---	---	0.07	---
	80	0.71	0.57	0.76	1.00	0.85	0.71	---
	95	0.29	0.43	0.24	---	0.15	0.21	0.82
	100	---	---	---	---	---	---	0.18
<i>Ldh-1</i>	101	---	---	---	---	---	---	1.00
	180	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	---
<i>Mdh-1</i>	100	---	---	---	---	---	---	0.97
	105	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.03
<i>6Pgd</i>	80	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	---
	85	---	---	---	---	---	---	1.00
<i>Pgi</i>	90	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.08	---
	100	---	---	---	---	---	0.92	1.00
<i>Pgm</i>	90	---	---	0.20	0.12	0.53	1.00	0.10
	100	1.00	1.00	0.80	0.88	0.47	---	0.90
<i>Pt</i>	90	---	0.08	---	---	0.13	1.00	---
	100	1.00	0.92	1.00	1.00	0.87	---	---
	105	---	---	---	---	---	---	1.00
H	$\bar{H}=3.5$	2.2	3.4	4.5	1.2	6.3	2.2	2.9
P	$\bar{P}=0.13$	0.05	0.10	0.21	0.05	0.26	0.10	0.16
A	$\bar{A}=1.14$	1.05	1.10	1.21	1.05	1.26	1.16	1.16

trois allèles, 70, 80, 95, l'allèle 80 étant le plus fréquent et l'allèle 70 n'étant présent que dans l'échantillon (6) du Niger à une fréquence de 7% ; c) *Pgi* avec deux allèles 90 et 100 ; tous les échantillons sont à l'état homozygote pour l'allèle 90, à l'exception de l'échantillon (6) du Niger où il n'a qu'une fréquence de 8% ; d) *Pgm* avec deux allèles 90 et 100, les échantillons (2) du Bandama et (1) du Sassandra étant homozygotes pour l'allèle 100, alors que celle du Niger (6) est homozygote pour l'allèle

le 90. Les autres échantillons sont polymorphes avec ces deux allèles; e) *Pt* avec deux allèles 90 et 100. L'allèle 100 est majoritaire dans la plupart des échantillons, Comoé (4), lagune Ébrié (3), et Sassandra (1) étant homozygotes; dans le Niger (6), seul l'allèle 90 est présent. En résumé, la population (6) du Niger se différencie des populations de Côte d'Ivoire par trois locus (*Amy*, *Idh-2*, *Pgi*) qui possèdent des allèles diagnostiques et deux locus (*Es-1* et *Pgi*) dont l'allèle le plus commun est rare dans les autres échantillons.

Dans l'échantillon de *C. johnelsi*, 16 locus sur les 19 étudiés sont monomorphes, ce sont : *Aat-1*, *Aat-2*, *Ak*, *Amy*, *Es-1*, *Es-2*, *Glo*, *Idh-1*, *Ldh-1*, *Ldh-2*, *Mdh-2*, *Ndh*, *Pgi*, *Gpd*, *Pt*, *Sod*. Le locus *Mdh-1* possède un polymorphisme faible (l'allèle 105 ayant une fréquence de 3%). Deux locus ont un polymorphisme moyen : a) *Idh-2*, avec deux allèles, 95 et 100, le premier ayant une fréquence de 82%, et b) *Pgm*, avec deux allèles, 90 et 100, ce dernier ayant une fréquence de 90%.

C. johnelsi est nettement différencié de *C. nigrodigitatus*, six locus (soit environ le tiers des locus étudiés) possèdent des allèles diagnostiques, ce sont : *Es-1*, *Idh-2*, *Ldh-1*, *Mdh-1*, *Gpd*, *Pt*.

Aucun des échantillons étudiés n'est totalement monomorphe. Pour *C. nigrodigitatus*, les échantillons présentant le plus fort polymorphisme (indices P, A et H) sont ceux des lagunes Ébrié et Aby. Cependant, compte tenu de la faible taille de certains échantillons, cette variation demande à être confirmée. Les valeurs moyennes des indices de polymorphisme des deux espèces sont du même ordre de grandeur que celles obtenues chez les 183 espèces de poissons considérées par NEVO (1984) : $H = 0,051 \pm 0,035$ et $P = 0,209 \pm 0,137$.

Relations génétiques entre échantillons

A partir de la matrice de distances génétiques de ROGERS (1972) entre les différents échantillons des deux espèces considérées ici (tabl. II), nous avons construit un dendrogramme traduisant leurs relations phénétiques (fig. 2) en utilisant l'algorithme de FITCH et MARGOLIASH (1967) qui autorise des vitesses d'évolution différentes dans les diverses populations. L'échantillon (6) du Niger est bien différencié de ceux (1 à 5) de la Côte d'Ivoire. Au sein de ceux-ci, les échantillons (1) du Sassandra et (2) du Bandama sont regroupés, ceux (3) et (4) de la lagune Ébrié et de la Comoé sont également proches. La population (5) de la lagune Aby occupe une position extrême dans ce groupe. Les relations phénétiques entre ces cinq populations semblent refléter leur répartition géographique. *C. johnelsi* est nettement détaché de l'ensemble des populations de *C. nigrodigitatus*.

TABLEAU II
Distances de ROGERS (1972) entre les échantillons
ROGERS' (1972) distances between the samples

	(1) Sassandra					
		(2) Bandama				
(2) Bandama	0.012		(3) Ebrié			
(3) Ebrié	0.018	0.029		(4) Comoé		
(4) Comoé	0.022	0.033	0.022			
(5) Aby	0.048	0.051	0.031	0.042	(5) Aby	
(6) Niger	0.263	0.265	0.252	0.266	0.233	(6) Niger
(7) Cavally	0.353	0.344	0.357	0.364	0.378	0.401

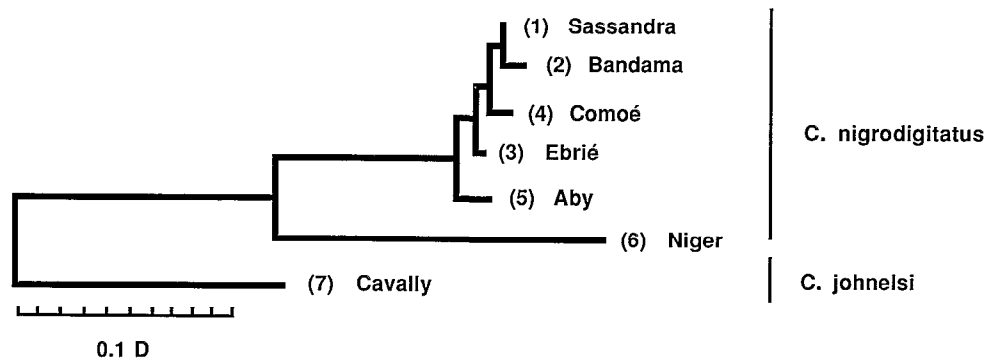


FIG. 2. — Relations phénétiques entre les divers échantillons étudiés. Le dendrogramme a été obtenu avec le programme FITCH à partir de la matrice de distances de ROGERS (1972).

Phenetic relationships between the various samples; this dendrogram was obtained using FITCH program from a matrix of ROGERS' (1972) distances

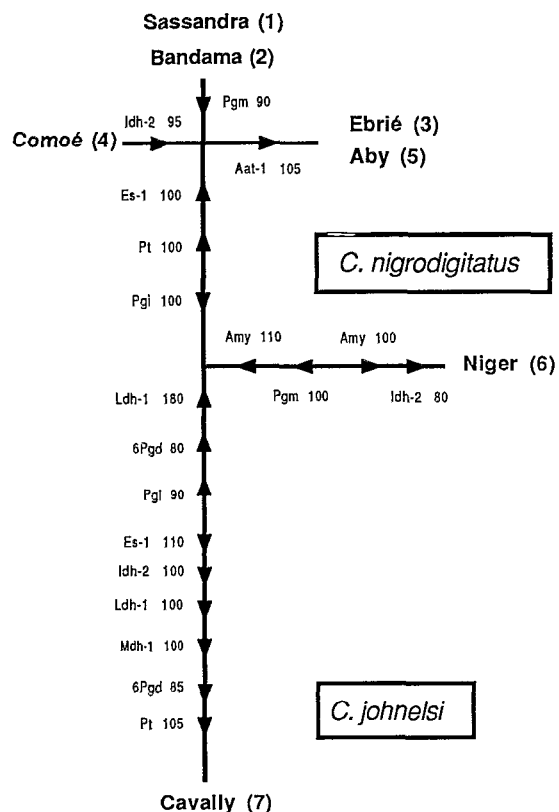


FIG. 3. — Relations cladistiques entre les divers échantillons étudiés. Le réseau a été obtenu avec le programme CLIQUE à partir de la matrice de présence/absence des caractères.
Cladistic relationships between samples. This network was obtained using CLIQUE program to analyze the matrix of the presence/absence of characters

La figure 3 représente le réseau des relations cladistiques obtenu par l'algorithme de compatibilité du programme « CLIQUE » de J. FELSENSTEIN. On observe le regroupement des populations (1) et (2) prélevées dans les bassins du Sassandra et du Bandama, et celui des échantillons (3) et (5) des deux lagunes, Ebrié et Aby. La Comoé et ces deux groupes diffèrent les uns des autres par deux événements, c'est-à-dire l'apparition (présence) ou la disparition (absence) d'un allèle. La population (6) du Niger à Bamako, diffère des échantillons de Côte d'Ivoire par sept événements. Enfin, la population de *C. johnelsi* se trouve à une distance égale (14 événements) de toutes les populations de *C. nigrodigitatus*.

CONCLUSION

L'étude génétique de *C. nigrodigitatus* montre une nette structuration géographique dont le fait le plus

marquant est la grande divergence de la population du Niger à Bamako par rapport à celles des divers bassins fluviaux de Côte d'Ivoire. Parmi ces derniers, on observe un regroupement des populations du Sassandra et du Bandama, d'une part, et des deux lagunes, d'autre part.

La distribution de *C. nigrodigitatus* dépasse largement l'Afrique de l'Ouest puisque l'espèce existe du Sénégal jusqu'en Angola (RISCH, 1986). L'étendue de cette répartition, associée au degré important de différenciation que nous avons observé, permet de penser qu'il existe plusieurs groupes génétiquement bien différenciés qui pourraient avoir des caractéristiques différentes en élevage, ou/et dont l'hybridation par croisements pourrait avoir des potentialités intéressantes pour les aquaculteurs.

L'espèce *C. johnelsi*, présente une variabilité moyenne. Elle permettra sans doute l'obtention d'hybrides, comme ceux déjà obtenus entre *C. nigrodigitatus* et *C. maurus* (HEM, communication personnelle), pouvant améliorer les qualités des élevages. En effet, *C. johnelsi* est une espèce qui est plus proche de *C. nigrodigitatus* que ne l'est *C. maurus*. RISCH (1986), sur la base de caractères morphologiques et méristiques, a placé *C. maurus* dans le même sous-genre que *C. auratus* (sous-genre *Chrysichthys*), alors que *C. nigrodigitatus* et *C. johnelsi* ont été regroupés dans un autre sous-genre (*Melanodactylus*). Il en est de même pour les proximités génétiques (AGNÈSE en préparation).

Dans certains cas, on a montré que la diversité phénétique de certains enzymes variait avec l'environnement, impliquant des différences biochimiques et physiologiques *in vivo* entre les variants allozymiques qui contribuent directement ou indirectement à la valeur adaptative des individus. C'est le cas pour le polymorphisme de la leucine amino peptidase (*Lap*) chez la moule *Mytilus edulis* (KOEHN, 1978, KOEHN *et al.*, 1981), ou pour le polymorphisme de la glutamate pyruvate transaminase (*Gpt*) chez le copépode *Trigriopus californicus* (d'après BURTON *et al.*, 1983, cités par NEVO, 1984). L'origine et le maintien des taux importants de polymorphisme observés dans les échantillons des deux lagunes (conditions physico-chimiques de l'eau, trophiques, éthologiques, historiques, etc.) constitue un sujet d'étude dont les résultats pourraient avoir des implications directes sur la gestion des ressources génétiques des populations naturelles ou d'élevage.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué dans le cadre du programme PEDALO (Poissons d'Eau Douce de l'Afrique de l'Ouest), financé par l'ORSTOM et le P.I.R.E.N. L'un des auteurs (J.-F. AGNÈSE) a bénéficié d'une allocation de recherche de

l'ORSTOM pendant 12 mois. Ils adressent leurs plus vifs remerciements à l'ensemble des équipes du Centre de Recherches Océanologiques d'Abidjan et de l'ORSTOM de Bamako (laboratoire d'Hydrobiologie), ainsi qu'aux membres du labo-

ratoire de Génétique de l'Institut des Sciences de l'Évolution de Montpellier, pour leur aide tout au long de ce travail.

Manuscrit accepté par le Comité de Rédaction le 10 mai 1989

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALLENDORF (F. W.), UTTER (F. M.), 1979. — Population genetics, in W. S. Hoar, D. J. Randall, J. R. Brett editors. *Fish physiology*, volume 8 : 407-454. Academic press, New York.
- CHEVASSUS (B.), GUYOMARD (R.), CHOURROUT (D.), QUILLET (E.), 1983. — Production of viable hybrids in salmonids by triploidisation. *Genet. Selec. Evol.* 15 (4) : 469-582.
- CHOURROUT (D.), CHEVASSUS (B.), GUYOMARD (R.), 1986. — L'amélioration génétique des poissons. *La Recherche*, vol. 17, n° 180 : 1028-1038.
- ESTABROOK (G. F.), JOHNSON (C. S.), McMORRIS (F. R.), 1976. — A mathematical foundation for the analysis of character compatibility. *Mathematical Biosciences* 23 : 181-187.
- FITCH (W. M.), MARGOLIASH (E.), 1967. — Construction of phylogenetic trees. *Science* 155 : 279-284.
- HEM (S.), 1986. — Premiers résultats sur la reproduction contrôlée de *C. nigrodigitatus* en milieu d'élevage. In *Aquaculture Research in African Region*. F.I.S. seminar P.U.D.O.C. Wageningen : 189-205.
- KOEHN (R. K.), 1978. — Physiology and biochemistry of enzyme variation : the interface of ecology and population genetics. In *Ecological genetics : The interface* : 51-72. Brussard P. F. (ed.) Springer Verlag, New York.
- KOEHN (R. K.), IMMERMANN (F. W.), 1981. — Biochemical studies of aminopeptidase polymorphism in *Mytilus edulis*. I. Dependence of enzyme activity on season, tissue, and genotype. *Biochem. genet.* 19 : 115-142.
- LE QUESNE (W. J.), 1969. — A method of selection of characters in numerical taxonomy. *Systematic zoology* 18 : 201-205.
- MAKEYEVA (A. P.), 1975. — The phenomenon of hybrid gynogenesis in fishes. *J. Ichtyol.* (15) : 72-81.
- NEI (M.), 1978. — Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 89 : 583-590.
- NEVO (E.), BEILES (A.), BEN-SHLOMO (R.), 1984. — The evolutionary significance of genetic diversity : ecological, demographic and life history correlates. Evolutionary dynamics of genetic diversity. G. S. Mani (ED.). *Lecture notes in biomathematics*, vol. 53 : 13-213.
- PASTEUR (N.), PASTEUR (G.), BONHOMME (F.), CATALAN (J.), BRITTON-DAVIDIAN (J.), 1987. — Manuel de génétique par électrophorèse des protéines. Collection Technique et Documentation, éditeur Lavoisier Paris, 217 p.
- RISCH (L.), 1986. — Het genus *Chrysichthys* Bleeker 1858, en aanverwante genera (Pisces, Siluriformes, Bagridae). Thèse de l'Université Catholique de Louvain, 731 p.
- ROGERS (J.), 1972. — Measures of genetic similarity and genetic distances. *Studies in genetics VII* : 145-153. University of Texas Publication 7213. Austin, Texas.
- SHAKLEE (J. B.), 1983. — The utilisation of isozymes as gene markers in fisheries management and conservation. In *Isozymes : current topics in biological and medical research*, volume 11 : 213-247. M. C. Rattazzi, J. G. Scandalios, G. S. Whitt' editors. Alan R. Liss, New York.