

LES TRANSFERRINES DE DEUX ESPÈCES DE SARDINELLES : *SARDINELLA AURITA* (C.V.) et *SARDINELLA EBA* (C.V.)*

par J.-C. BARON**

RÉSUMÉ

L'analyse électrophorétique en gel d'amidon de sérum de *Sardinella eba* et *Sardinella aurita* marqués par le fer radioactif ^{59}Fe n'a pas révélé de polymorphisme de cette protéine. Chez *S. aurita* certains individus présentent en plus de la fraction transferrinique principale une ou deux fractions supplémentaires à migration plus anodique. En électrophorèse sur papier cette transferrine a une mobilité bêta et en chromatographie sur DAE-cellulose, elle s'élue en tampon acétate $\text{pH} = 5,7$ de molarité 0,015. L'analyse immunoélectrophorétique révèle un arc de précipitation.

ABSTRACT

The electrophoretic analysis in starch gel of sera from *Sardinella eba* and *Sardinella aurita* labelled with radioactive iron (^{59}Fe) did not show any polymorphism of this protein. In addition to the main fraction, sometimes one or two additional bands are observed, migrating on the anodic side of the main fraction. In paper electrophoresis the transferrin has a beta mobility and by chromatography on DAE-cellulose it is eluted with two different acetate buffers ($\text{pH} = 5,7$ and 0,015 M or $\text{pH} = 6,5$ and 0,09 M). The immunoelectrophoretic analysis shows one precipitation arc.

INTRODUCTION

Les problèmes de différenciation des différents stocks de sardinelles de la Côte Ouest d'Afrique nous ont amené à rechercher des marqueurs génétiques dans le sang de ces poissons. La TRANSFERRINE est l'une des protéines sériques dont nous avons entrepris l'étude.

La transferrine (ou sidérophiline) est, comme son nom l'indique, caractérisée par sa fonction de fixation et de transport du fer dans l'organisme. Elle a été chez les mammifères parmi les premières protéines sériques à révéler l'existence de différentes variétés génétiques par l'analyse électrophorétique en gel d'amidon (ASHTON, 1957; SMITHIES, 1957). Ces différentes variétés génétiques permettent tout d'abord d'identifier les individus par leur « phénotype » de transferrine mais aussi de caractériser les différentes populations d'individus.

* Travail réalisé dans le laboratoire d'Immunochimie du Dr J. M. FINE au Centre National de Transfusion Sanguine, 6 rue Alexandre-Cabanel, Paris, 15^e.

** Océanographe biologiste de l'O.R.S.T.O.M.

Chez l'homme, SMITHIES (1959) a pu ainsi classer les individus selon leurs systèmes de groupes de transferrine qui dépend de 3 gènes allélomorphes. Les études se sont rapidement étendues aux autres mammifères, aux oiseaux, reptiles et batraciens.

On a ainsi détecté 24 phénotypes et 10 formes moléculaires de transferrines chez le singe *Macaca mulatta* (23). Chez les bovins, les transferrines sont sous la dépendance de 8 gènes codominants. Le phoque *Pagophilus groenlandicus* possède 3 transferrines déterminant 6 phénotypes (39). Chez l'oiseau *Columba livia* 2 gènes seulement régissent les 3 phénotypes observés (37) et le batracien *Pleurodeles waltlili* possède une transferrine à deux allèles TfA et TfB (19).

L'intérêt d'un tel marqueur génétique n'a pas échappé aux chercheurs travaillant sur les poissons et pour qui les problèmes de « reconnaissance » des différentes populations ne pouvaient se résoudre que par des études morphométriques et méristiques longues et fastidieuses et par des marquages effectifs (plaquettes, tubes, bâtons aimantés, encres, etc.) suivis de recaptures.

Chez les chondrichthyens la transferrine de Rousette (genre *Scylium*) a été particulièrement bien étudiée (6) (9) ainsi que celle du plus primitif des vertébrés inférieurs, la lampre *Petromyzon marinus* (7) (8). Pour ces animaux la transferrine, bien que composée de subunités, ne présente pas de polymorphisme génétique.

Par contre chez les osteichthyens, certaines espèces présentent un polymorphisme génétique de la transferrine alors que d'autres espèces en sont dépourvues.

TABLEAU I
Caractères des transferrines chez quelques vertébrés inférieurs.

FAMILLES ET ESPÈCES	CARACTÈRES DES TRANSFERRINES	RÉFÉRENCES
BATRACIENS <i>Pleurodeles waltlili</i>	2 bandes distinctes correspondant à TfA et TfB.	FINE <i>et al.</i> 1967
POISSONS Osteichthyens <i>Scylium stellare</i>	Voir tableau II.	
Chondrichthyens <i>S. canicula</i>	Transferrine homogène de mobilité γ lente. Isolement de la transferrine par chromatographie sur CM cellulose puis filtration sur Sephadex G 200. Composition en acides aminés.	BOFFA <i>et al.</i> 1965 BOFFA <i>et al.</i> 1968
CYCLOSTOMES <i>Petromyzon marinus</i>	Transferrine de mobilité γ lente. Plusieurs constituants Tf 1, 2, 3, 4, 5 présentant 1 arc unique en analyse immunoélectrophorétique. Isolement de la transferrine par chromatographie sur DEAE cellulose puis sur CM cellulose.	BOFFA <i>et al.</i> 1966

1. LES TRANSFERRINES CHEZ LES POISSONS TÉLÉOSTÉENS

C'est chez l'anguille que FINE *et al* (1964) ont mis en évidence pour la première fois un groupe de transferrine chez un poisson (14). Les mêmes auteurs rapportent la même année des résultats concernant les mobilités électrophorétiques de six poissons migrateurs : *Anguilla anguilla*, *Salmo salar*, *S. trutta*, *S. gairdnerii*, *Trutta marina*, *Mugil cephalus* (16).

TABLEAU II
Caractères des transferrines chez quelques poissons téléostéens.

FAMILLES ET ESPÈCES	CARACTÈRES DES TRANSFERRINES	RÉFÉRENCES
CLUPEIDAE <i>Clupea harengus</i>	2 variantes A et B. 2 allèles TfA et TfB donnant lieu à 3 phénotypes. Présence d'une forme rare TfA ₁ .	MÖLLER <i>et al.</i> , 1966 NAEVDAL <i>et al.</i> , 1966
<i>Sprattus sprattus</i> <i>Engraulis mordax</i> <i>Sardinella eba</i>	3 phénotypes. 2 allèles TfA et TfB avec A subdivisé en A ₁ et A ₂ . 3 allèles. Transferrine de mobilité β_1 - β_2 . Pas de polymorphisme. Une seule bande (N° 8).	MÖLLER <i>et al.</i> , 1966 MÖLLER <i>et al.</i> , 1967 BARON, 1969
<i>Sardinella aurita</i> <i>Sardina pilchardus</i>	Pas de polymorphisme, une seule bande (n° 8). Présence de une ou deux sous unités à migration plus rapide. Pas de polymorphisme. Une seule bande (G ₁).	BARON, 1970 KRAJNOVIC, 1969
SALMONIDAE <i>Salmo salar</i>	Transferrines de mobilités variables α_2 ou β_1 . Polymorphisme à 2 allèles (non vérifié). 2 allèles communs TfA et TfC donnant 3 phénotypes AA, AC et CC. 1 allèle rare TfB donnant 2 phénotypes BC, AB.	FINE et DRILHON, 1964 WILKINS, 1969 MÖLLER, 1970
<i>Trutta marina</i> <i>Salmo trutta</i> <i>Salmo gairdneri</i> <i>Salvelinus fontinalis</i>	Existence d'une transferrine de mobilité β_1 . Existence d'une transferrine de mobilité α_2 - β_1 . Existence d'une transferrine de mobilité α_1 . 3 allèles TfA, TfB et TfC.	FINE et DRILHON, 1964 FINE et DRILHON, 1964 FINE et DRILHON, 1964 WRIGHT <i>et al.</i> , 1970
CATOSTOMIDAE <i>Ictiobus cyprinellus</i>	2 allèles trf ^a et trf ^b donnant lieu à 3 phénotypes.	KOEHN <i>et al.</i> , 1967
CYPRINIDAE <i>Cyprinus carpio</i>	3 allèles TfA, TfB, TfC donnant lieu à 6 phénotypes.	CREYSSEL <i>et al.</i> , 1964 CREYSSEL <i>et al.</i> , 1966 SILBERZAHN <i>et al.</i> , 1967
ANGUILLIDAE <i>Anguilla anguilla</i>	3 transferrines TfA, TfB et TfC sous la dépendance de 2 gènes (Atlantique). Présence chez l'anguille de Méditerranée d'une forme rare TfD.	FINE <i>et al.</i> , 1964 DRILHON <i>et al.</i> , 1966
SILURIDAE <i>Ictalurus melas</i>	4 allèles TfA, TfB, TfC, TfD à un seul locus. 9 phénotypes observés.	FINE <i>et al.</i> , 1970
GADIDAE <i>Gadus virens</i> <i>Gadus pollachius</i> <i>Gadus merlangus</i> <i>Gadus aeglefinus</i> <i>Gadus morhua</i>	2 allèles codominants TfA, TfB. 2 allèles codominants TfA, TfB. 2 allèles codominants TfA, TfB. Variations individuelles. 5 gènes codominants allélomorphes TfA, TfB, TfC, TfC ₁ , TfD. Présence de 3 allèles rares TfA ₁ , TfB ₁ , TfE. Mise en évidence de stocks de morues aux îles Faroe.	MÖLLER <i>et al.</i> , 1966 MÖLLER <i>et al.</i> , 1966 MÖLLER <i>et al.</i> , 1966 MÖLLER <i>et al.</i> , 1966 JAMIESON <i>et al.</i> , 1967 et 69 MÖLLER, 1965
<i>Merluccius productus</i> <i>Merluccius merluccius</i> <i>Merluccius senegalensis</i>	4 allèles Tf ^a , Tf ^b , Tf ^c , Tf ^d . Résultats identiques à partir de l'humeur vitrée de l'œil concentrée 5 fois. 1 phénotype AA. 3 allèles TfA, TfB et TfC. 2 phénotypes AB, BC.	UTTER, 1969 PICHOT, 1970
MUGILIDAE..... <i>Mugil cephalus</i>	Existence d'une transferrine de mobilité α_1 - α_2 .	FINE <i>et al.</i> , 1965
CARANGIDAE <i>Caranx sexfasciatus</i>	Une seule transferrine. Pas de polymorphisme.	BLUMBERG, 1960

FAMILLES ET ESPÈCES	CARACTÈRES DES TRANSFERRINES	RÉFÉRENCES
CORYPHAEINIDAE <i>Coryphaena hippurus</i>	Variations individuelles Tf _A , Tf _B .	BARON, 1969
SCOMBRIDAE <i>Sarda chiliensis</i> <i>Scomber scombrus</i> <i>Scomberomorus tritor</i>	2 allèles TfF et TfG donnant lieu à 3 phénotypes. Variations individuelles. Variations individuelles Tf _A , Tf _B .	BARRETT <i>et al.</i> , 1967 MÖLLER <i>et al.</i> , 1966 BARON, 1970 (personnel)
SCORPAENIDAE <i>Sebastes marinus</i>	Variations individuelles.	CUMMING, 1967
THUNNIDAE <i>Thunnus albacares</i> <i>Katsuwonus pelamis</i> <i>Thunnus alalunga</i> <i>Thunnus thynnus</i> <i>Thunnus thynnus maccoyii</i>	2 allèles Tf _A , Tf _B codominants donnant lieu à 3 phénotypes. 3 allèles Tf _C , Tf _D , Tf _E donnant lieu à 6 phénotypes. Variations. 3 allèles. Pas de polymorphisme. Variations 2 phénotypes.	BARRETT <i>et al.</i> , 1967 FUJINO <i>et al.</i> , 1968 BARRETT <i>et al.</i> , 1967 FUJINO <i>et al.</i> , 1968 (b) FUJINO <i>et al.</i> , 1968 (b) FUJINO <i>et al.</i> , 1968 (b) FUJINO <i>et al.</i> , 1968
PLEURONECTIDAE <i>Hippoglossus stenolepis</i> <i>Pleuronectes platessa</i> <i>Pleuronectes flesus</i>	4 allèles codominants Tf _A , Tf _B , Tf _C , Tf _D . 8 phénotypes observés. Différences individuelles. Plus de 15 transferrines différentes se répartissant selon 3 groupes principaux qui dépendraient de 3 allèles codominants. Variations ontogéniques. 8 variants transferriniques.	TSUYUKI <i>et al.</i> , 1969 DE LIGNY, 1966 DE LIGNY, 1968 DE LIGNY, 1970

En 1966, MÖLLER et NAEVDAL (34) font un bilan portant sur 19 poissons et constatent un manque de polymorphisme chez 7 d'entre eux : *Mallotus villosus*, *Molva molva*, *Anorhichas lupus*, *Pleuronectes flesus*, *Trigla gurnardus*, *Cyclopterus lumpus* et *Salmo salar*. Pour ce dernier, MÖLLER décrit plus tard 3 allèles Tf_A, Tf_C et Tf_B (36). En 1969, enfin, de LIGNY (30) édite un tableau récapitulatif très complet concernant les résultats acquis au cours des études sérologiques et biochimiques sur les poissons.

Il nous est apparu utile de faire le point sur les recherches concernant les transferrines chez les poissons téléostéens. Le tableau II donne l'état des travaux concernant les principales espèces.

Chez les *Clupeidae*, le hareng et le sprat présentent un polymorphisme simple avec deux allèles Tf_A et Tf_B (34). Il était donc intéressant de rechercher un polymorphisme comparable chez les Sardinelles bien que les premiers résultats obtenus sur un petit nombre d'individus aient été négatifs. L'étude d'une cinquantaine d'individus n'ayant pas révélé de polymorphisme, il devient évident qu'une telle recherche n'est plus rentable. De plus, la découverte d'un allèle rare ne serait d'aucune utilité pratique dans le rôle de marqueur génétique que doit jouer le polymorphisme biochimique dans le cadre d'une étude des populations de Sardinelles. *Sardina pilchardus* de l'Adriatique semble aussi être monomorphe (26).

Chez l'anguille, 3 transferrines ont été découvertes sur *Anguilla anguilla* de l'Atlantique (14). L'étude de la même espèce méditerranéenne a révélé une forme très rare de transferrine TfD et il est possible de distinguer des populations selon leur aire géographique de pêche. L'étude de la répartition des divers phénotypes a permis de différencier l'espèce *Anguilla anguilla* de l'espèce *A. rostrata* des côtes américaines (18).

Les *gadidés* possèdent aussi des transferrines polymorphiques (33). La morue *Gadus morhua* dont l'importance économique est évidente est l'objet d'études très suivies (32). Cinq formes

de transferrines puis, plus tard, 3 allèles rares furent découverts, permettant la différenciation de différents stocks aux îles Faroe (24).

Les thons représentent un intérêt commercial et économique très important dans le monde de la pêche et ils ont été parmi les premiers à être étudiés sérologiquement. La plupart d'entre eux présentent un polymorphisme des transferrines : 3 allèles chez *Katsuwonus pelamis* et *Thunnus alalunga* (4) (22), 2 allèles chez *T. albacares* (4) (21). Par contre *T. thynnus* ne présente aucun polymorphisme (22).

Chez les poissons plats *Hippoglossus stenolepis* possède 4 variétés de transferrines (44), *Pleuronectes flesus* en possède 8 et *Pleuronectes platessa* ne présente pas moins de 15 transferrines différentes se répartissant selon 3 groupes principaux qui dépendraient de 3 allèles codominants (28). En outre, de LIGNY a constaté chez ce dernier poisson des variations dans le « phénotype » des individus en corrélation avec leur âge.

Ce dernier point confirme la nécessité d'étudier des poissons adultes et d'effectuer une analyse détaillée des données concernant la génétique des populations. FUJINO a relevé pour *K. pelamis* une corrélation entre le type de transferrine et la longueur des individus. D'après WILKINS la conservation du sérum congelé provoquerait des « variations » des transferrines chez *Salmo salar* (46). D'autre part, il a été vérifié sur l'anguille (13) que des variations des conditions du milieu étaient sans effet sur l'expression phénotypique des transferrines de cet animal. Enfin, la transmission héréditaire des transferrines chez les poissons n'a fait l'objet que de peu d'études expérimentales (Plie, Saumon) et elle est admise par analogie avec celle de l'homme et des mammifères où elle est bien établie et celle du batracien *Pleurodeles wallii* démontrée par CHALUMEAU (19).

2. LES TRANSFERRINES DE SARDINELLES

Les Sardinelles étudiées proviennent soit du *Ghana* (Tema), soit du *Sénégal* (Casamance et Dakar). Pour *Sardinella eba*, l'étude des transferrines a été effectuée sur 24 sérums du lot 6 péché le 4 septembre 1968 à Tema et sur 5 sérums du lot 10 péché le 21 octobre 1969 au large de la Casamance. Les sérums ont été utilisés après 2 mois de conservation. Pour *Sardinella aurita*, nous avons utilisé des sérums provenant de plusieurs lots péchés à Dakar à deux périodes de l'année pour lesquelles les Sardinelles capturées semblent être différentes :

- début novembre 1969 (lots, 12, 14, 15, 16, 18, 19 et 20);
- fin avril 1970 (lot 26).

Le nombre d'échantillons traités est de 40 sérums individuels et 5 mélanges (lots de novembre 1969) et de 18 sérums individuels (lot 26).

2.1. Techniques.

2.1.1. OBTENTION DES SÉRUMS.

Le sang est prélevé sur le poisson vivant après section en avant du bulbe cardiaque qui projette alors le sang directement dans un tube stérile sec. Le prélèvement par aspiration dans l'aorte caudale après section de la queue a été écarté pour les risques de pollution qu'il présente. La ponction par microseringue s'est révélée peu pratique, la coagulation du sang étant très rapide. Le sérum est prélevé en deux fois : directement à la pipette après exsudation et il est généralement exempt d'hémoglobine, puis après centrifugation à environ 1 000 tours / mn, ce qui parfois provoque l'hémolyse des globules et teinte le sérum en rouge. Le sérum est conservé congelé, sans antiseptique, à —20° jusqu'au moment d'être utilisé. Nous n'avons pas constaté de « variation » particulière des transferrines après conservation des sérums pendant un an.

2.1.2. MARQUAGE DES SÉRUMS.

Chaque échantillon reçoit du fer radioactif sous forme de $^{59}\text{Fe Cl}_3$ qui est ajouté à raison de 50 microlitres (environ 10 microcuries) par ml de sérum. Après une incubation de trois heures à 4 °C les sérums sont dialysés pendant 16 h contre une solution contenant 9 g de chlorure de sodium par litre afin d'éliminer le fer en excès.

2.1.3. ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE SUR PAPIER.

Elle est effectuée à pH 8,6 en tampon véronal — lactate de calcium. Après une migration de 5 heures, les protéines sont fixées par la chaleur (tube à rayons infra-rouges) et les autoradiographies sont réalisées sur film Kodirex double face pendant une durée de 24 heures. Les bandes de papier sont ensuite colorées à l'Amidoschwarz 10 B, de façon à comparer les électrophorégrammes aux autoradiographies. Une électrophorèse préparative sur papier Whatman n° 3 en tampon de Hirschfeld a été effectuée avec un pool de sérums de *S. eba*. Après la migration une bande témoin est fixée et colorée, le reste du papier est découpé en bandelettes de 5 mm dont on extrait les fractions protéiques qui subissent ensuite une électrophorèse en gel d'amidon.

2.1.4. ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE EN GEL D'AMIDON.

La méthode utilisée est décrite en détail dans le livre « Techniques d'électrophorèse de zones » de J. M. FINE et C. ROPARTZ. Nous avons employé des gels d'amidon hydrolysé Connaught concentrés à 13 % et le système de tampon discontinu suivant (selon Ashton) :

— solution 1 : Hydroxyde de lithium.....	1,2 g
acide borique.....	11,89 g
eau distillée q.s.p.f.....	1 litre
— solution 2 : Acide citrique.....	1,6 g
Trishydroxyméthyl-aminométhane.....	6,29 g
eau distillée q.s.p.f.....	1 litre

La solution 1 est utilisée dans les bacs à électrodes.

Le tampon utilisé pour faire le gel est composé pour 90 % par la solution 2 et pour 10 % par la solution 1. La migration est effectuée pendant 6 heures à 4V/cm environ. Après l'électrophorèse, les gels sont coupés transversalement en trois tranches dont l'une est immédiatement congélée puis recouverte, à l'obscurité, par un film Kodirex. Une autre tranche de gel est immédiatement colorée à l'Amidoschwarz 10 B. Elle est ensuite décolorée et plastifiée pour être conservée. La révélation de la transferrine au Nitroso-R-salt (40) n'a pas donné de bons résultats.

2.1.5. ANALYSE IMMUNOÉLECTROPHORÉTIQUE.

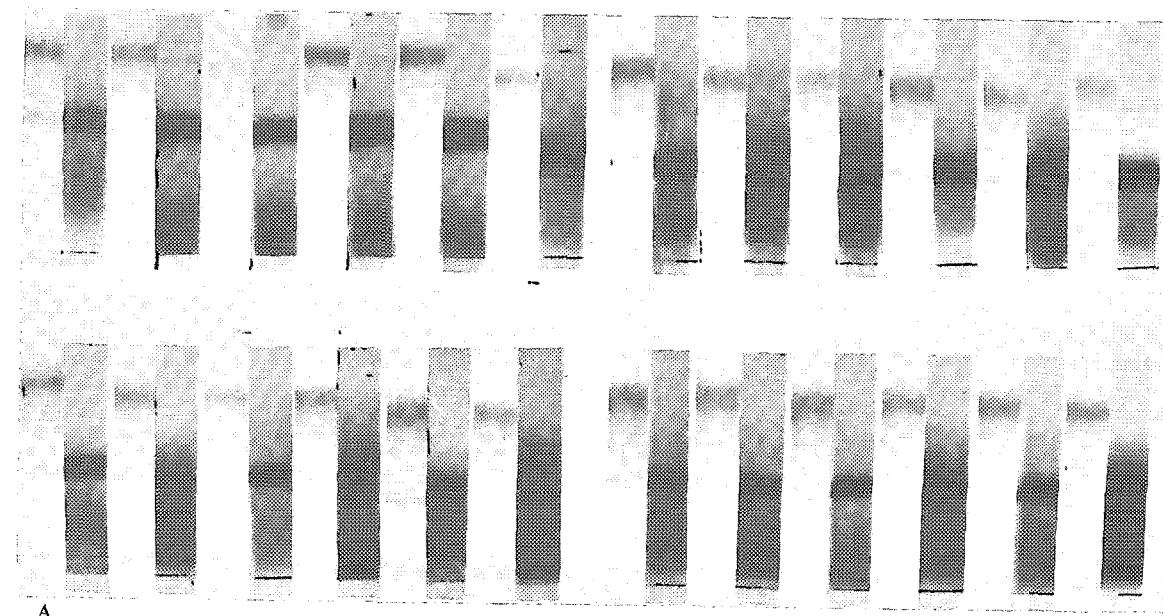
Cette analyse a été effectuée selon la méthode classique, en gel d'Agarose I.B.F. à 1,5 %. L'immunsérum anti-sérum total de *Sardinella aurita* a été obtenu par immunisation de deux lapins avec un mélange de sérums de *S. aurita* et d'adjuvant complet de Freund.

PLANCHE I

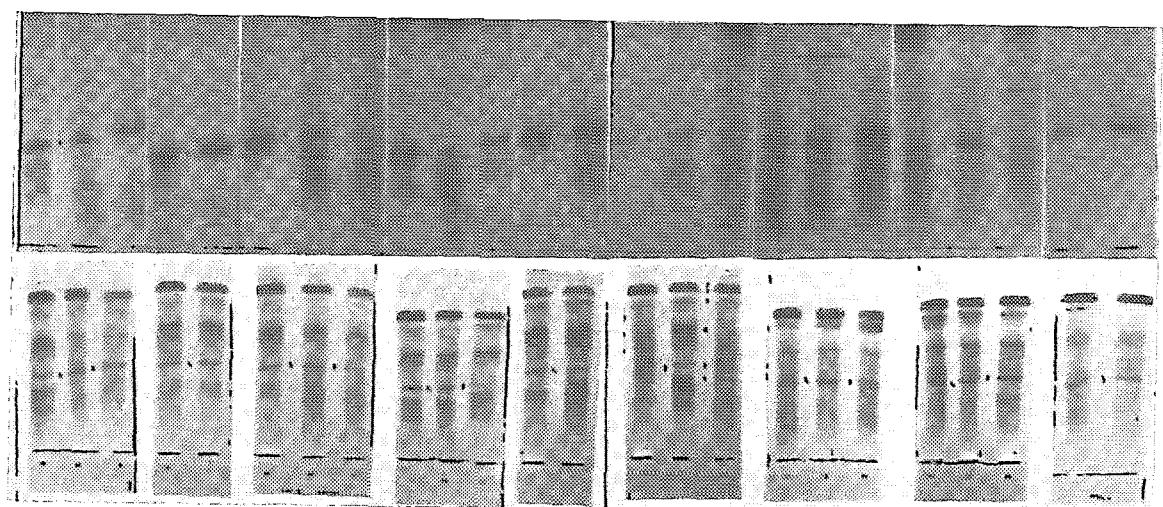
A. Électrophorégrammes sur papier de sérums de *S. eba*, accompagnés de l'autoradiographie correspondante.

B. Électrophorégrammes en gel d'amidon de sérums de *S. eba* avec les autoradiographies correspondantes (au-dessus).

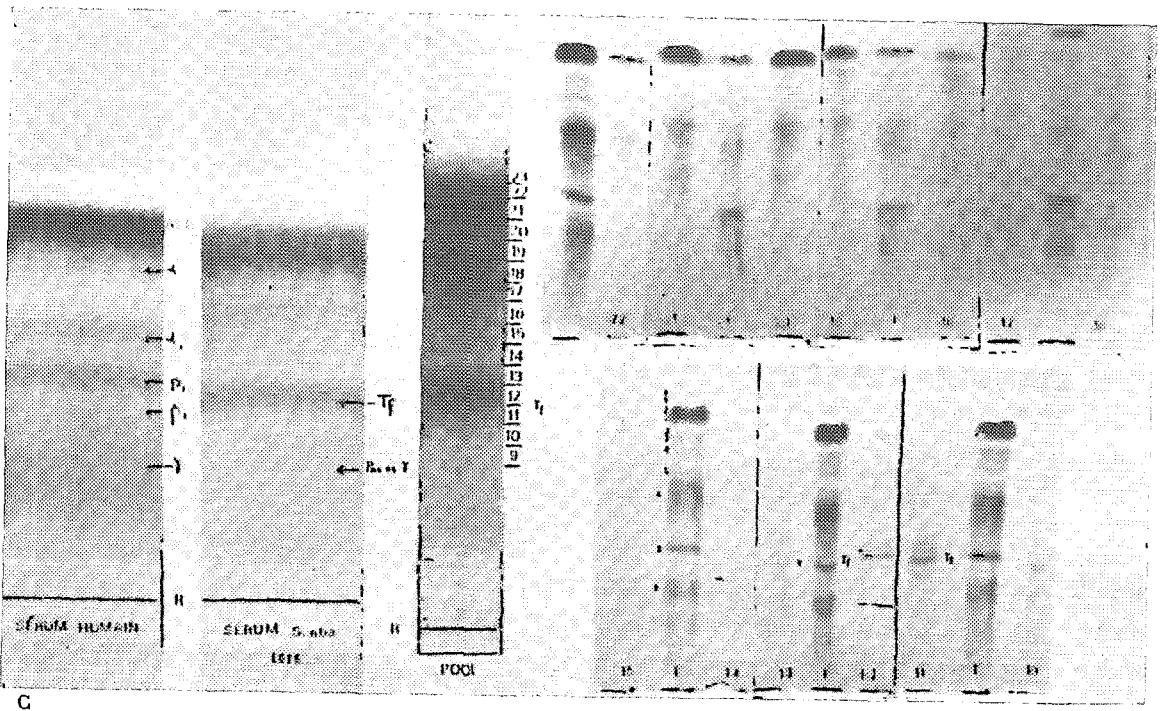
C. Électrophorégrammes sur papier de sérum humain et de sérum de *S. eba* montrant la mobilité de la transferrine. Électrophorèse préparative sur papier d'un pool de *S. eba* suivie d'une électrophorèse des fractions en gel d'amidon (T = sérum témoin).



A



B



6

2.1.6. FRACTIONNEMENT DU SÉRUM.

Divers essais ont été effectués par chromatographie sur colonne de DEAE-cellulose (diéthyl-aminoéthyl-cellulose) avec des tampons acétate de pH et de molarité différents ainsi que par filtration sur gel de sephadex G 200 en tampon Tris à pH = 8.

2.2. Résultats.

2.2.1. LA TRANSFERRINE DE *SARDINELLA EBA*.

L'autoradiographie des transferrines après électrophorèse sur papier de vingt quatre individus et de deux pools ne révèle qu'une seule bande et aucun polymorphisme n'est décelable (Planche I, A). La migration conjointe de sérum humain et de sérum de *S. eba* nous apprend que cette transferrine a une *mobilité bêta* et se situe entre les bêta 1 et les bêta 2 globulines humaines (Planche I, C). L'autoradiographie après électrophorèse en gel d'amidon confirme la présence d'une seule protéine à propriété transferrinique. Les échantillons étant de faible volume, la dialyse n'a pas toujours été possible et le fer en excès s'est fixé sur d'autres protéines comme cela est visible sur la planche I, B. Par contre, à partir de pools convenablement dialysés une seule bande est bien individualisée. La superposition des films radiographiques et des gels d'amidon colorés à l'amidoschwarz permet d'identifier la transferrine à la *bande n° 8* de nos électrophorégrammes. Cette fraction n° 8 est de plus contenue dans les extraits 11 et 12 de l'électrophorèse préparative sur papier (Planche I, C) et correspond bien à une protéine de mobilité bêta.

2.2.2. LA TRANSFERRINE DE *SARDINELLA AURITA*.

L'électrophorèse sur papier d'un mélange de 2 sérums de *S. aurita* marqués au fer radioactif montre une *mobilité bêta* de la transferrine et en gel d'amidon ; cette transferrine semble avoir une mobilité relative plus faible que celle de *S. eba* (Planche 2, A). Les autoradiographies après électrophorèse en gel d'amidon de 33 sérums individuels et 3 pools provenant des lots pêchés en novembre à Dakar et de 18 sérums individuels provenant du lot 26 pêché fin avril au même endroit ne révèlent aucun polymorphisme transferrinique (Planche 2, C). Ces sérums ont tous été dialysés après l'addition de 59 Fe Cl₃ et de ce fait, la lecture des résultats est plus nette, révélant souvent la présence d'*une ou deux sous-unités* à propriété transferrinique. Ces sous-unités lorsqu'elles existent accompagnent toujours la fraction principale mais ne la remplacent jamais, leur intensité est beaucoup plus faible, leur migration plus anodique et elles s'éludent en même temps que la fraction principale au cours d'une chromatographie sur DEAE-cellulose (fraction K). L'intensité particulière des bandes du lot 16 est due à l'emploi de fer radioactif neuf et par conséquent à un nombre de microcuries par ml. de sérum supérieur à celui des autres échantillons.

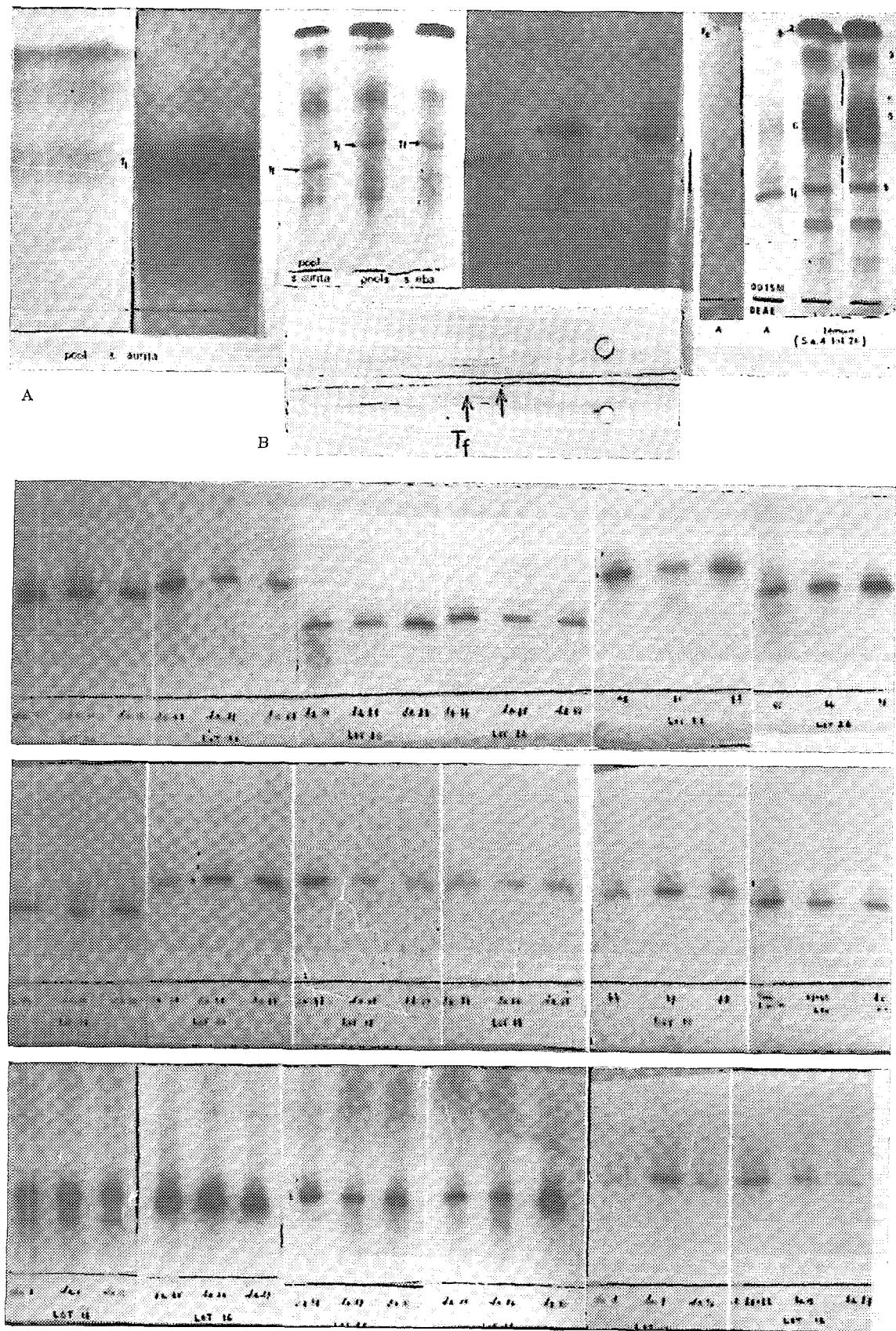
L'analyse immunoélectrophorétique en gel d'agarose du sérum de *S. aurita* révèle au moins 9 arcs de précipitation importants parmi lesquels l'arc n° 8 correspond à la transferrine révélée par autoradiographie (Planche II, B). Cet arc est doublé par un autre arc qui pourrait résulter d'une seconde précipitation antigène-anticorps, ou bien correspondre aux sous-unités observées en gel d'amidon.

PLANCHE II

A. De gauche à droite; Électrophorégramme sur papier et autoradiographie d'un pool de sérums de *S. aurita* — Électrophorégramme en gel d'amidon et autoradiographie de pools de sérums de *S. aurita* et de *S. eba* — Électrophorégramme en gel d'amidon et autoradiographie de la fraction A élue sur DEAE-cellulose avec un tampon acétate pH = 5,6 de molarité 0,015 M.

B. Analyse immunoélectrophorétique du sérum de *S. aurita* avec autoradiographie de la transferrine.

C. Autoradiographies après électrophorèses en gel d'amidon de sérums de *S. aurita*.



C

Le fractionnement du sérum par chromatographie sur colonne de DEAE-cellulose en tampon acétate de pH = 5,7 donne un élut A à forte teneur en transferrine pour une molarité de 0,015 M. L'identité de cette fraction a été vérifiée par électrophorèse en gel d'amidon d'après sa position en fonction d'un sérum-témoin ainsi que par autoradiographie (Planche II, A). Avec un tampon acétate de pH = 6,5 et de molarité 0,09 M on obtient également une fraction à forte teneur en transferrine (fraction K).

3. CONCLUSION

L'étude des transferrines de *Sardinella eba* et de *Sardinella aurita* a montré que ces protéines sériques n'avaient pas de formes polymorphiques chez ces clupéidés. La transferrine dans ce cas précis ne peut donc pas être utilisée comme marqueur génétique permettant de différencier divers stocks de Sardinelles. Par contre, nous avons noté des variations importantes, actuellement à l'étude, au niveau des fractions 3 et 4 et plus encore au niveau de la fraction 9 (3). Il en est de même pour les fractions à activité peroxydasique et pour les estérasées sériques, ces dernières semblant pouvoir être utilisées comme marqueurs génétiques.

4. REMERCIEMENTS

Nous tenons à exprimer ici nos vifs remerciements au Dr J. M. FINE qui nous a permis de mener à bien ce travail dans son laboratoire ainsi qu'à son équipe dont l'aide technique nous a été précieuse.

Manuscrit reçu le 26 novembre 1970.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BARON (J. C.), 1969. — Note complémentaire sur le sang de quelques poissons marins de Côte d'Ivoire. *Doc. sci. provis. Centre Rech. Océanogr. Abidjan*, n° 037, 22 p. multigr.
- [2] BARON (J. C.), 1969. — Note sur le sang de *Sardinella eba* (C.V.). Rapport scientifique n° 1 du Projet de développement de la pêche pélagique côtière. *Projet PNUD/SF FAO. Abidjan*, 17 p. multigr.
- [3] BARON (J. C.), 1970. — Preliminary studies on the blood of *Sardinella* from the west african coast. XII^e Conférence internationale sur les groupes sanguins et le polymorphisme biochimique des animaux. Juillet. Budapest.
- [4] BARRET (I.), TSUYUKI (H.), 1967. — Serum transferrin polymorphism in some Scombrid fishes. *Copeia*, n° 3, sept., pp. 551-557.
- [5] BLUMBERG (B. S.), 1960. — Biochemical polymorphisms in animals : haptoglobins and transferrins. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 104, pp. 25-28.
- [6] BOFFA (G. A.) *et al.*, 1965. — Existence et caractères de la transferrine chez la Roussette. *C. R. Soc. Biol.*, t. 159, n° 12, p. 2317.
- [7] BOFFA (G. A.) *et al.*, 1966. — Mise en évidence et isolement de la transferrine de la Lamproie marine (*Petromyzon marinus* L.). *C. R. Acad. Sci.*, Paris 262, pp. 2294-2297.
- [8] BOFFA (G. A.) *et al.*, 1967. — Immunoglobulins and Transferrins in marin Lamprey sera. *Nature*, 214, p. 700-702.
- [9] BOFFA (G. A.), DRILHON (A.) et FAURE (A.), 1968. — Structure de la transferrine de Roussette (Selaciens du genre *Scyliorhinus*) : composition en acides aminés. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, t. 267, pp. 1067-1070.
- [10] CREYSSEL (R.) *et al.*, 1964. — Étude du sérum de carpe (*Cyprinus carpio*) par électrophorèse en gel d'amidon. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 46, n° 1, pp. 149-159.
- [11] CUMMING (K. B.), 1967. — *Internation. Comm. NW. Atlant. Fish. Res. Bull.*, n° 4, pp. 59-66.
- [12] DRILHON (A.) *et al.*, 1966. — Les groupes de transferrines chez l'Anguille. Différences phénotypiques entre les anguilles de l'Atlantique et les anguilles méditerranéennes. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, t. 262, pp. 1315-1318.

- [13] DRILHON (A.) et FINE (J. M.), 1969. — Les groupes de transferrines dans le genre *Anguilla L.* ICES, réunion spéciale sur « L'identification biochimique et sérologique des stocks de poissons » n° 27, 7 p. multigr.
- [14] FINE (J. M.) et al., 1964. — Existence de groupes sériques chez *Anguilla vulgaris*. Mise en évidence par électrophorèse et autoradiographie de plusieurs types de transferrines. *C. R. Acad. Sci.*, 258, pp. 753-756.
- [15] FINE (J. M.) et al., 1964. — Les types de transferrines chez certains poissons migrateurs in « Protides of the biological fluids ». Ed. H. Peeters-Elsevier, pp. 165-168.
- [16] FINE (J. M.) et DRILHON (A.), 1964. — Étude électrophorétique et immunologique des protéines sériques de quelques espèces de Salmonidés. *C. R. Soc. Biol.*, 158, pp. 1307-1310.
- [17] FINE (J. M.), BOFFA (G. A.) et DRILHON (A.), 1966. — Les groupes de transferrines chez l'anguille. *Rev. Pathol. comparée*, 66^e année, t. 3.3., 776, pp. 229-233.
- [18] FINE (J. M.) et al., 1967. — Les groupes de transferrines dans le genre *Anguilla*. Différences dans les fréquences phénotypiques de transferrines chez *Anguilla anguilla* et *Anguilla rostrata*. *C. R. Acad. Sci.*, 265, pp. 58-60.
- [19] FINE (J. M.), CHALUMEAU-LE-FOULGOC (M. Th.) et AMOUCH (P.), 1967. — Existence de groupes de transferrines chez un amphibiens urodel : *Pleurodèles wallii*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, t. 265, pp. 1248-1250.
- [20] FINE (J. M.) et DRILHON (A.), 1970. — Polymorphisme des transferrines chez *Ictalurus melas*. XII^e Conférence Internationale sur les groupes sanguins et le polymorphisme biochimique des animaux. Juillet, Budapest.
- [21] FUJINO (K.), KANG (T.), 1968. — *Copeia*, pp. 56-63.
- [22] FUJINO (K.), KANG (T.), 1968 (b). — *Genetics*, vol. 59, pp. 79-91.
- [23] GOODMAN (M.), 1965. — Species and geographic differences in the transferrin polymorphism of macaques. *Sciences N. Y.*, 147, pp. 884-886.
- [24] JAMIESON (A.), JONES (W. J.), 1967. — Two races of Cod at Faroe. *Heredity*, vol. 22, part. 4, pp. 610-612.
- [25] JAMIESON (A.), JONSSON (J.), 1969. — The Greenland component of spawning cod at Iceland. ICES special meeting on « The biochemical and serological identification of fish stocks ». Dublin.
- [26] KRAJNOVIC-OZRETIC (M.), 1969. — Analyses of whole blood proteins in the Adriatic sardine (*Sardina pilchardus Walb.*). ICES. Special Meeting on « The biochemical and serological identification of fish stocks » n° 28. Dublin.
- [27] KOEHN (R. K.), JOHNSON (D. W.), 1967. — *Copeia* pp. 805-808.
- [28] LIGNY (W. de), 1966. — Polymorphism of serum transferrins in plaice, in Polymorphismes biochimiques des animaux. I.N.R.A., Paris, 544 p.
- [29] LIGNY (W. de), 1968. — Ontogenetic changes of serum transferrins in plaice. XI th. European Conference on animal blood groups and biochemical polymorphism. Warsaw, July 2-6 th.
- [30] LIGNY (W. de), 1969. — Serological and biochemical studies on fish populations. *Océanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 7, pp. 411-513.
- [31] LIGNY (W. de), 1970. — Transferrin and serum esterase polymorphism in Flounder population. XII th. International Conference on animal blood groups and biochemical polymorphisms. Juillet. Budapest.
- [32] MÖLLER (D.), 1965. — Serum transferrins in Cod. ICES, Gadoid Fish Committee, n° 165.
- [33] MÖLLER (D.), NAEVDAL (G.), 1966. — Serum transferrins of some Gadoid fishes. *Nature*, V. 210, n° 5033, pp. 317-318.
- [34] MÖLLER (D.), NAEVDAL (G.), 1966. — Transferrin polymorphism in fishes, in Polymorphismes biochimiques des animaux. I.N.R.A., Paris, 544 p.
- [35] MÖLLER (D.), NAEVDAL (G.), 1967. — *Fisker Hav.* (2), pp. 15-20.
- [36] MÖLLER (D.), 1970. — Transferrin polymorphism in atlantic salmon (*Salmo salar*) *J. Fish. Res. Board. Canada*, 27, pp. 1617-1625.
- [37] MUELLER (J. O.), SMITHIES (O.), IRWIN (M. R.), 1962. — Transferrin variation in Columbidae. *Genetics*, 47, pp. 1385-1392.
- [38] NAEVDAL (G.), HARALDSVIK (S.), 1966. — *Internation. Counc. Explor. Sea. Coun. Mtg.*, H24, 7 p. multigr.
- [39] NAEVDAL (G.), 1965. — Protein polymorphism used for identification of harp seal populations. *Arb. Univ. Bergen. Mat. Naturv.*, sér. n° 9, 20 p.
- [40] NESS (A. T.), DICKERSON (H. C.), 1965. — The determination of serum iron by nitroso-R. salt without deproteinization. *Clin. Chim. Acta* 12, pp. 579-588.
- [41] OHNO (S.), WOLF (U.), ATKIN (N. B.), 1968. — *Hereditas* 59, p. 169-187.
- [42] PICHOT (P.), 1970. — Étude électrophorétique des protéines du sérum et du cristallin des merlus de la côte nord-ouest africaine. Laboratoire de l'I.S.T.P.M., Sète (France).
- [43] SILBERZAHN (P.), RICHARD (G. B.) et GREYSSEL (R.), 1967. — Isolement et étude des protéines à propriétés hémopexiques et de la transferrine du sérum de carpe (*Cyprinus carpio L.*). *Bull. Soc. Chim. Biol.* 49, n° 5, pp. 495-506.

- [44] TSUYUKI (H.), ROBERTS (E.), BEST (E. A.), 1969. — Serum transferrin systems of the Pacific Halibut (*Hippoglossus stenolepis*). ICES. Special meeting on «The Biochemical and Serological Identification of fish stocks ». Dublin.
- [45] UTTER (F. M.), 1969. — Transferrin variants in Pacific hake (*Merluccius productus*). *J. Fish. Res. Board Canada*, v. 26, n° 12.
- [46] WILKINS (N. P.), 1969. — Biochemical and serological studies on Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). ICES. Special meeting on «The Biochemical and Serological Identification of fish stocks ». Dublin.
- [47] WRIGHT (J. E.), ATHERTON (J. R. and L. M.), 1970. — Polymorphisms for L. D. H. and transferrin loci in brook trout populations — Symposium on fish cytogenetics. *Trans. amer. Fish. Soc.* Vol. 99, n° 1, pp. 98-248.