



Rapport de stage

La phylogénie des Bathydraconidae (Notothenioidei, Teleostei)

de Elliot Sivel

sous la direction de Cyril Gallut, maître de conférences à l'Université Pierre et Marie Curie

Station de biologie marine de Concarneau
Place de la Croix 29900 Concarneau

Année universitaire 2014/2015
Licence de Biologie des organismes
Université de Pau et des Pays de l'Adour

"Le présent rapport constitue un exercice pédagogique qui ne peut en aucun cas engager la responsabilité de l'Entreprise ou du Laboratoire d'accueil"

Remerciements

Je tiens à remercier Pr Nadia Améziane, chef de la station de biologie marine de Concarneau du Muséum national d'Histoire naturelle pour m'avoir mis à disposition les ressources nécessaires au bon déroulement de mon stage ainsi que de m'avoir accueilli durant ces deux mois.

Je tiens à remercier Dr Cyril Gallut, maître de conférences à l'Université Pierre et Marie Curie, de m'avoir permis de découvrir le monde de la recherche grâce à ce stage. Je le remercie également de m'avoir aidé à trouver une orientation, une fois de plus grâce à ce stage. Je tiens aussi à le remercier de m'avoir aidé dans la réalisation de mon rapport de stage et pour la préparation de ma soutenance.

Je remercie Dr Nalani Schnell, maître de conférences au Muséum national d'Histoire naturelle, de s'être rendue disponible depuis Paris afin de répondre à mes interrogations quant à la morphologie des poissons de manière générale.

Je remercie également Dr Bruno Chanet, Muséum national d'Histoire naturelle pour le temps qu'il a pris pour discuter de mon travail sur la morphologie des bathydraconidés ainsi que pour l'aide qu'il m'a apporté sur mon travail de rédaction.

Table des Matières

1. Introduction	13
2. Matériel & Méthodes	15
2.1. Morphologie	15
2.1.1. Méthode	15
2.1.2. Matériel	17
2.2. Génétique	17
2.2.1. Matériel	17
2.2.1.1. Spécimens	17
2.2.1.2. Gènes	19
2.2.2. Méthode	19
3. Résultats	21
3.1. Morphologie	21
3.2. Génétique	23
3.2.1. Historique - revue bibliographique	23
3.2.2. Arbres	25
4. Discussion	29
5. Conclusion et Perspectives	31
Bibliographie	33
Base de données consultées	37

1. Introduction

Les conditions climatiques glaciales qui caractérisent l'Antarctique en font une thématique de recherches scientifiques dans divers domaines tels que l'astronomie ou la glaciologie. L'étude de la biodiversité du continent est aussi un sujet de recherche récurrent. Une grande partie des recherches menées tente de décrire la diversité aquatique. Pour cela, un certain nombre d'expéditions et de programmes de recherche ont été menés au cours des dernières décennies. C'est notamment le cas du programme REVOLTA, un programme français ayant pour but d'étudier la biodiversité benthique de la mer Dumont d'Urville. Ce programme se déroule sous la tutelle de l'IPEV (Institut polaire français Paul-Émile Victor). C'est dans le cadre de ce programme que s'inscrit ce stage effectué sur une durée de deux mois.

L'objectif de ce stage consiste à étudier la phylogénie d'une famille de poissons téléostéens endémique de l'Océan Austral, les Bathydraconidae Regan, 1913. Les bathydraconidés appartiennent au sous-ordre des Notothenioidei. Les Bathydraconidae représentent 17 espèces (cf. Tableau 1) réparties en 11 genres et en trois sous-familles, les Bathydraconinae, les Cygnodraconinae et les Gymnodraconinae (Balushkin, 2000 ; Derome *et al.*, 2002).

Les notothenioides sont le sous-ordre le plus représenté dans l'Océan Austral. Ils représentent 45,5 % des espèces présentes dans cet océan en regroupant huit familles et 134 espèces, dont les bathydraconidés (Lecointre, 2012). Bien que les bathydraconidés soient endémiques de l'Antarctique, ce n'est pas le cas de tous les notothenioides. En effet, les Bovichtidae, les Pseudaphritidae et les Eleginopsidae sont des familles dont les aires de répartition s'étendent en Nouvelle-Zélande, en Australie et en Amérique du Sud. Les Nototheniidae représentent une famille qui rassemble aussi bien des espèces endémiques de l'Océan austral, mais aussi des espèces pouvant être trouvées dans des eaux plus chaudes. Les Harpagiferidae, les Artedidraconidae, les Channichthyidae ainsi que les Bathydraconidae représentent le « High Antarctic Clade » (Clade haut Antarctique) (Near *et al.*, 2004). Ce sont des familles endémiques de l'Océan Austral.

Les notothenioides se sont diversifiés suite à l'isolement de l'Antarctique des continents australien et sud américain provoquant un refroidissement des eaux il y a 25 Millions d'années (Clarke et Johnston, 1996). L'adaptation aux conditions climatiques est due à leur capacité de produire des protéines antigels (Lecointre et Ozouf-Costaz, 2004). Cette capacité a permis de coloniser des niches écologiques laissées libres suite au refroidissement des eaux.

À partir de cette information de nombreux chercheurs se sont intéressés à l'origine de ce groupe et ont tenté de résoudre la question de la phylogénie en utilisant plusieurs méthodes. Des études morphologiques, mais aussi génétiques ont été menées dans le but de décrire la phylogénie des Bathydraconidae. Les premières études morphologiques montrent la monophylie de la famille des Bathydraconidae en se basant sur l'absence de la première nageoire dorsale (Eastman, 1991). Cependant, les premiers résultats obtenus avec l'outil génétique au début des années 90 vont totalement remettre en question les différents résultats. En effet, ces résultats ne confirment pas les résultats obtenus en morphologie.

Cependant, les résultats génétiques ne sont pas satisfaisants. En effet, la résolution des résultats sur la phylogénie des bathydraconidés n'est pas suffisante pour affirmer la monophylie des bathydraconidés que l'on trouve en morphologie (cf. Figure 1). Certes, on retrouve les sous-familles décrites en morphologie, mais les relations entre ces trois sous-familles ainsi qu'avec les autres taxons du Clade haut Antarctique sont variables, mal soutenues voire irrésolues. De ce fait, il est intéressant de réaliser une analyse combinée entre la morphologie et la génétique. Cette initiative a déjà été exploitée, cependant, un très petit nombre de caractères morphologiques ont été étudiés et l'ensemble des résultats moléculaires ne sont que très faiblement

Bathydraconidés	Channichthyidés	Artedidraconidés	Nototheniidés
<i>B. antarcticus</i>	<i>Chionobathycus dewitti</i> Andriashev et Neyelov, 1978	<i>Dolloidraco longedorsalis</i> Roule, 1913	<i>Cryothenia peninsulae</i> Daniels, 1981
<i>B. marri</i>	<i>Cryodraco antarcticus</i> Dollo, 1900	<i>Pogonophryne scotti</i> Regan, 1914	<i>Trematomus scotti</i> (Boulenger, 1907)
<i>B. macrolepis</i>	<i>Channichthys velifer</i> Maeisner, 1974	<i>Pogonophryne sp.</i>	<i>Trematomus loennbergii</i> Regan, 1913
<i>A. nudiceps</i>	<i>Chaenodraco wilsoni</i> Regan 1914		<i>Trematomus tokarevi</i> Andriashev, 1978
<i>A. dewitti</i>	<i>Chaenocephalus aceratus</i> (Lönnberg, 1906)		<i>Trematomus lepidorhinus</i> (Pappenheim, 1911)
<i>P. evansii</i>	<i>Pagetopsis maculatus</i> Persukov et Permitin, 1958		
<i>P. breviceps</i>	<i>Neopagetopsis ionah</i> Nybelin, 1947		
<i>R. glacialis</i>	<i>Chionodraco myersi</i> DeWitt et Tyler, 1960		
<i>V. infiscipinnis</i>	<i>Chionodraco rastrospinosus</i> DeWitt et Hureau, 1979		
<i>C. mawsoni</i>	<i>Chionodraco hamatus</i> (Lönnberg, 1905)		
<i>G. acuticeps</i>	<i>Channichtys rhinoceratus</i> (Richardson, 1844)		
<i>G. australis</i>	<i>Champscephalus gunnari</i> Lönnberg, 1905		
<i>P. georgianus</i>	<i>Chionodraco sp.</i>		

Tableau 2 : liste des espèces étudiées à partir des gènes

soutenus (Derome *et al.*, 2002). C'est pourquoi l'ensemble des résultats est à revoir. C'est là l'objectif de ce stage. Il vise à approfondir les recherches antérieures sur la phylogénie des notothenioides et des bathydraconidés. Pour cela, une revue bibliographique est réalisée pour faire le tour complet de la question et l'historique des recherches sur les Bathydraconidae. De plus, cette étude sera complétée par une étude morphologique et moléculaire. Elle s'appuiera sur un plus grand nombre de spécimens en reprenant les analyses moléculaires effectuées dans l'expérience de Dettai *et al.*, 2012. Les analyses morphologiques ont été réalisées en même temps par le biais d'une revue bibliographique. Grâce à ces différentes études, la monophylie des Bathydraconidés est testée en réalisant une analyse combinée. L'objectif final sera de répondre aux questions suivantes : Quels sont les liens entre les différentes espèces de bathydraconidés ? Quelle est leur phylogénie ? De quel taxon frère sont elles les plus proches ?

2. Matériel & Méthodes

2.1. Morphologie

2.1.1. Méthode

Pour l'aspect morphologique de la phylogénie des Bathydraconidae, la première étape consiste à réaliser une revue bibliographique de l'ensemble des publications et descriptions concernant la morphologie des Bathydraconidae. Les premiers documents à retrouver, sont les descriptions initiales. Pour retrouver ces documents, il a fallu trouver des sites ou des bases de données qui regroupent ces documents.

Dans un second temps, on recherche l'ensemble de la bibliographie traitant de la morphologie des Bathydraconidés à partir des publications les plus récentes. À partir de ces publications et de leurs bibliographies, les publications de plus en plus anciennes sont récupérées jusqu'à atteindre la période des premières publications.

Après avoir lu, les différentes publications, une matrice et une base de connaissance ont été mises en place dans le but de regrouper et de standardiser toutes les descriptions morphologiques. La base de connaissance permet aussi d'automatiser l'identification des espèces. Cette automatisation va être très utile dans les cas de suspicion de synonymie entre deux espèces.

Pour construire la base de connaissance et la matrice, il est nécessaire d'énumérer les caractères et d'identifier toutes les états que peut prendre chaque caractère. Dès lors, pour faire le lien entre la matrice et les caractères, une feuille de codage a été réalisée, tandis que pour la base de connaissance, un modèle descriptif est mis en place. L'outil principal qui sera utilisé pour la phylogénie sera la matrice. La base de connaissance est mise en place en complément, car certaines fonctionnalités peuvent être utiles comme la comparaison de deux espèces décrites. Elle a surtout pour but l'identification des spécimens.

Avant de pouvoir faire tourner les logiciels permettant de reconstruire les arbres phylogénétiques, il est nécessaire de trier les différents caractères qui ont été rassemblés dans la matrice. En effet, il existe deux types de caractères, les caractères catégoriques et les caractères numériques. Dans la présente étude, les caractères numériques ne sont pas pris en compte dans les analyses, car les valeurs possibles, sont regroupées en classes qui ont des valeurs communes, on ne peut donc pas faire d'hypothèses d'homologie. Les caractères catégoriques décrivent des états tels que la présence ou l'absence d'un caractère ou bien sa forme. Ces caractères ne présentent pas de polymorphisme, de ce fait, ils sont utilisés en phylogénie, car ils permettent de formuler des hypothèses d'homologie.

2.1.2. Matériel

À partir de bases de données bibliographiques, les publications utilisées ont été trouvées. Les documents recherchés décrivent les 17 espèces de bathydraconidés (cf. Tableau 1).

Ainsi, l'analyse morphologique s'est basée sur les descriptions initiales de Günther (1878) pour *B. antarcticus*, de Fischer (1885) pour *P. georgianus*, de Dollo (1900 et 1906) pour *G. australis*, *R. glacialis* et *B. scotiae*, de Boulenger (1902 et 1907) pour *G. acuticeps* et *B. macrolepis*, de Vaillant (1906) pour *P. charcoti*, de Regan (1914) pour *P. evansii*, de Waite (1916) pour *A. nudiceps*, *C. mawsoni* et *R. harrissoni*, de Norman (1937 et 1938) pour *P. breviceps* et *B. marri*, de DeWitt (1964 et 1985) pour *V. infiscipinnis* et *B. joannae* et de Skøra (1995) pour *A. dewitti*.

À ces descriptions viennent s'ajouter les descriptions plus récentes. Les travaux réalisés qui sont utilisés dans le cadre de ce stage sont des publications de Balushkin publiées en 1995, 2000 et 2011, de Eastman et Lannoo en 2003, mais aussi l'ouvrage de Gon et Heemstra de 1990 ainsi que les fiches FAO de 1976.

Une fois les documents lus, afin de rassembler les données dans une matrice et éditer la feuille de codage, un logiciel de type tableur (Open Office ou Libre Office) est utilisé. Pour créer la base de connaissance, un logiciel en ligne est disponible. Il s'agit de Xper3 (<http://www.xper3.fr/>).

2.2. Génétique

Pour l'aspect génétique de l'étude, une revue bibliographique concernant l'historique des études sur la phylogénie des bathydraconidés a été réalisée. Il s'agit au travers de cet exercice de retracer l'historique des résultats des études antérieures. Pour cela, un certain nombre de publications ont été fournis au début du stage auxquelles viennent s'ajouter des publications sur lesquelles se basent les études les plus récentes. Ces publications ont été récupérées par les mêmes moyens que pour les publications traitant de la morphologie (Bases de données).

De plus, je n'ai pas réalisé les manipulations d'extraction d'ADN et de séquençage lors de mon stage. Les chromatogrammes des séquences m'ont été fournies à mon arrivée.

2.2.1. Matériel

2.2.1.1. Spécimens

La partie génétique de l'étude se fait à partir de spécimens collectés dans l'Océan austral. Les différentes campagnes et pêches ont permis de rapporter les spécimens. Ces spécimens représentent 34 espèces de notothenioides appartenant à quatre familles, les bathydraconidés, les channichthyidés, les artedidraconidés et les nototheniidés. Les espèces étudiées sont rassemblées dans le tableau 2. Les nototheniidés ne faisant pas partie du High Antarctic Clade, ils sont choisis comme extra groupe pour notre étude.

Les espèces non représentées ne le sont pas pour deux raisons. Soit leur aire de distribution ne correspond pas à l'aire de pêche des spécimens, soit aucun prélèvement ayant pour but une analyse génétique a été réalisé pour ces espèces. C'est le cas pour *B. scotiae*, *B. joannae* et *P.* Pour *R. harrissoni*, le problème est différent, c'est une espèce qui n'a plus été pêchée depuis 1937. Une synonymie avec une autre espèce est envisageable, mais elle reste encore à prouver.

Les spécimens étudiés correspondent donc à l'ensemble des représentants des familles des bathydraconidés et des channichthyidés. En revanche, pour les artedidraconidés et les nototheniidés, les spécimens étudiés correspondent aux espèces étudiées par Dettai *et al.* 2012. L'intérêt de garder tous les spécimens consiste tout d'abord à augmenter le nombre de spécimens et donc le nombre de séquences, ce qui a pour but d'améliorer la résolution de l'arbre. De plus, ceci permet de vérifier les mauvaises identifications ou les contaminations lors de la construction des arbres.

Parallèlement, les spécimens dont on a pas obtenu la séquence pour l'ensemble des gènes étudiés sont retirés de l'étude. De ce fait, l'étude porte sur 95 spécimens appartenant aux familles décrites plus haut.

2.2.1.2. Gènes

Les gènes étudiés sont au nombre de 5 (cf. Tableau 3). Ces gènes ont déjà été étudiés dans une étude antérieure (Dettai *et al.*, 2012). Parmi ces gènes, le gène COI est étudié. Ce gène est presque systématiquement étudié depuis l'apparition du barcoding. Il va permettre ainsi de vérifier les identifications en comparant les séquences obtenues lors d'expériences antérieures grâce au système BOLD. Les autres marqueurs sont des marqueurs qui ont été choisis en raison de leur vitesse de mutation. En effet, ils ont un taux de mutation ni trop faible ni trop fort permettant de faire apparaître des différences entre les espèces étudiées. De plus, ce sont des gènes qui ont été efficace pour des études à l'échelle des notothenioïdes

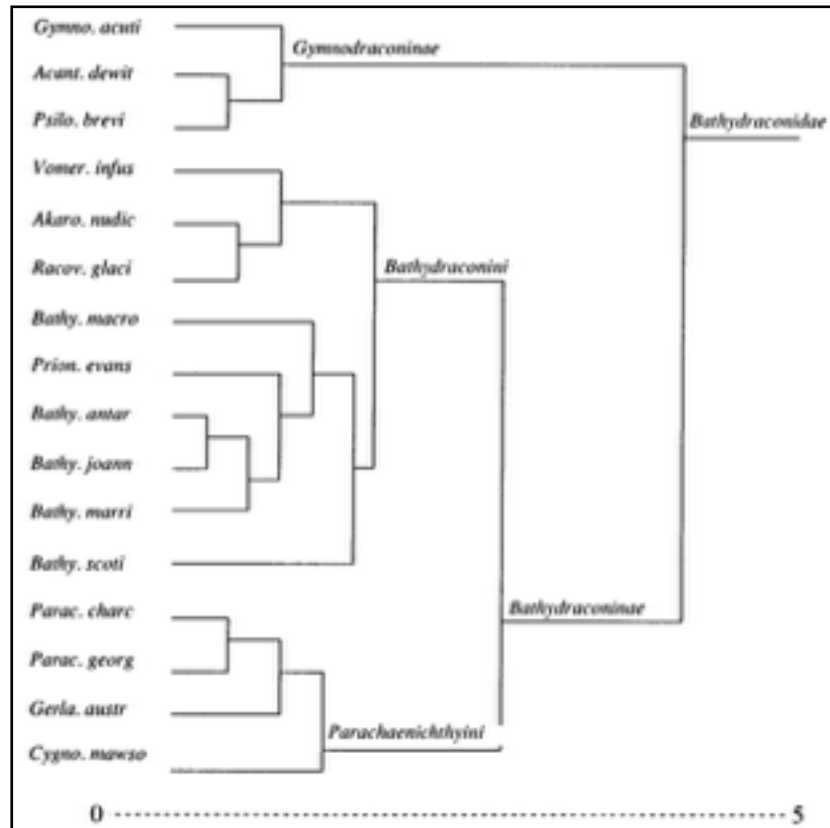
Gènes
COI
PPM
PKD1
SSRP
Rhodospine
HECW

Tableau 3 : Gènes étudiés

2.2.2. Méthode

La première étape n'a pas été réalisée lors de ce stage. Elle consiste à un prélèvement de tissus sur les spécimens puis en une extraction de l'ADN pour réaliser des PCRs permettant d'amplifier les gènes étudiés. Le produit de ces PCRs est ensuite séquençé. Pour les prélèvements de notre étude, le séquençage a été fait au génoscope d'Évry. La méthode de séquençage utilisée est la méthode Sanger. Dès lors, les séquences sont récupérées puis doivent être vérifiées à l'aide du logiciel CodonCode Aligner 5.1.5. Les séquences inexploitable sont retirées des données. Les séquences restantes sont assemblées sur un fichier puis ouvert avec le logiciel Seaview 4.5.4. (Gouy *et al.*, 2010). Une deuxième vérification est effectuée dans Seaview. Puis, le logiciel bioNJ est utilisé selon la méthode décrite par Gouy *et al.*, en 2010. Le calcul des arbres par gène est fait selon la méthode de distances en utilisant les distances observées.

Par la suite, les séquences sont concaténées dans le but d'avoir une seule séquence par spécimens comprenant tous les gènes étudiés. Les sites ayant des gaps sont retirées de l'étude à ce stade, car ces gaps ne correspondent pas à des insertions ou des délétions mais simplement à des différences de tailles de séquences obtenues. C'est ensuite avec une méthode de parcimonie que les arbres sont reconstruits. Le logiciel DNAPars compris dans le package PHYLIP version 3.696 est utilisé pour une analyse de parcimonie



*Figure 2 : la phylogénie des Bathydraconidés
selon Balushkin (Balushkin, 2000)*

3. Résultats

3.1. Morphologie

L'étude de la phylogénie des notothenioides et des bathydraconidés à partir de la morphologie est un domaine qui a précédé l'outil génétique. Les recherches commencent dans les années 80 avec notamment les recherches effectuées par Iwami en 1985. Cette étude montre que morphologiquement les Bathydraconidae sont un groupe monophylétique, en se basant sur le caractère de l'absence d'une première nageoire dorsale comme caractère discriminant. Les autres études morphologiques reprennent soit les résultats d'Iwami soit elles consistent en une nouvelle description de caractères chez ces mêmes espèces. C'est notamment le cas de Balushkin (Balushkin, 2000). Dans les recherches de Balushkin sur le thème de la phylogénie des bathydraconidés, Balushkin s'efforce de décrire les éléments d'ostéologie permettant de discriminer et identifier les différentes espèces de notothenioides (Balushkin, 2000) et de bathydraconidés (Balushkin, 1995). En résumé, les analyses morphologiques montrent jusqu'à présent que les bathydraconidés forment une famille monophylétique (cf. Figure 2). Cependant, Balushkin n'a pas fait de reconstruction phylogénétique. En effet, Balushkin, dans ses études ne décrit pas d'extra-groupe. Cela a pour conséquence qu'il n'est pas possible de considérer la monophylie comme un résultat de ses études. En revanche, Derome *et al.* en 2002, ont repris les travaux réalisés par Balushkin dans le but de réaliser une analyse de parcimonie. Ils obtiennent comme résultat la monophylie des bathydraconidés. L'étude de Derome *et al.* ne compte que 26 caractères et n'a été réalisée que pour une dizaine d'espèces.

Cependant, dans le but d'être tout à fait complet dans notre travail, il a été nécessaire de reprendre le travail sur la morphologie. Pour cela, il a fallu augmenter le nombre de caractères. La matrice qui a été construite à partir de la bibliographie étudiée est composée des 17 espèces de bathydraconidés et de 54 caractères. Parmi ces caractères, 16 sont des caractères numériques et 38 sont catégoriques. 41 caractères sont décrits pour toutes les espèces de bathydraconidés. 10 caractères ne sont que partiellement décrits et 5 caractères sont constants. 18 caractères supplémentaires ont été relevés, cependant ils n'ont pas été ajoutés à la matrice car les états de ces caractères au sein des différentes espèces ne sont pas décrits dans la littérature.

La conception de base connaissance sur Xper3 nous donne d'autres résultats. En effet, avec l'ensemble des caractères entrés dans la base de connaissance et la description pour les espèces quand l'information était présente, il est possible de discriminer toutes les espèces de bathydraconidés. L'observation de la matrice nous montre que la sous-famille des gymnodraconinés est caractérisée par la présence de pseudochoanes, mais aussi par une forme de museau pointue (cf. Figure 3). On arrive aussi à distinguer que la tribu des bathydraconinés est caractérisée par trois caractères qui sont la forme lobée de la partie antérieure de la nageoire dorsale (cf. Figure 4), un cinquième os cératobranchial entièrement recouvert de dents (cf. figure 5) et une taille de la région ethmoïde équivalent au diamètre de l'oeil contrairement à la sous-famille des cygnodraconinés dont la taille de l'os ethmoïde vaut deux fois celle du diamètre de l'oeil (cf. Figure 6). Le logiciel Xper3 permettant de comparer deux espèces, on s'aperçoit que les espèces *P. breviceps* et *A. dewitti*. se différencie que par le nombre de lignes latérales (cf. Tableau 4). On retrouve un fait similaire avec *R. harrissoni* et *R. glacialis*.



Figure 3 : différence de forme de museau (en haut B. antarcticus, en bas P. breviceps (Gymnodraconinae)) (source : BOLD systems)

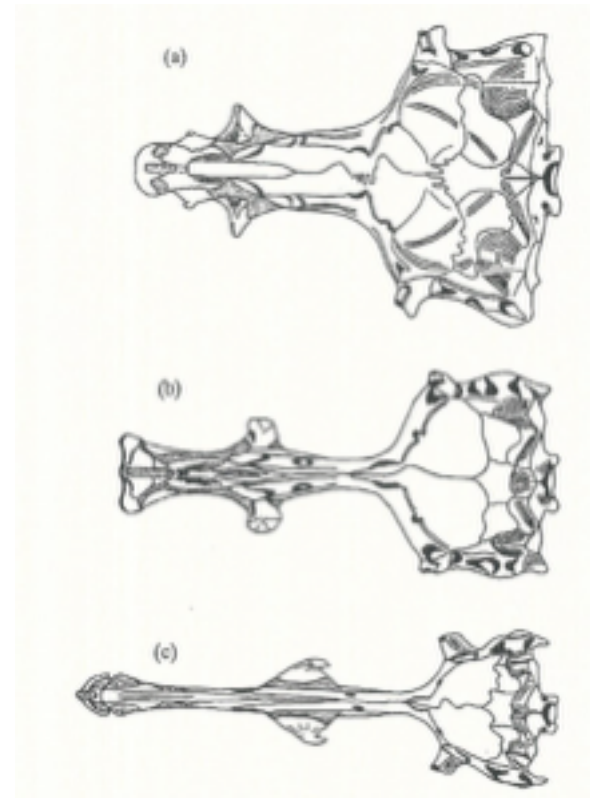


Figure 6 : différentes proportions de l'os ethmoïde par rapport au diamètre de l'oeil (a) plus petit que le diamètre de l'oeil, b) équivalent, c) 2 fois le diamètre de l'oeil) (Balushkin et Voskoboïnikova, 1995)

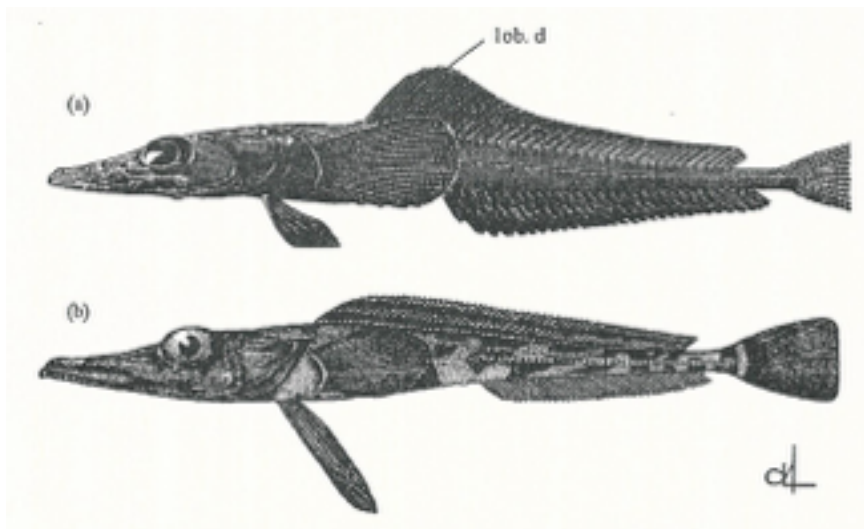


Figure 4 : Différence entre nageoire dorsale lobée et nageoire dorsale normale (Balushkin et Voskoboïnikova, 1995)

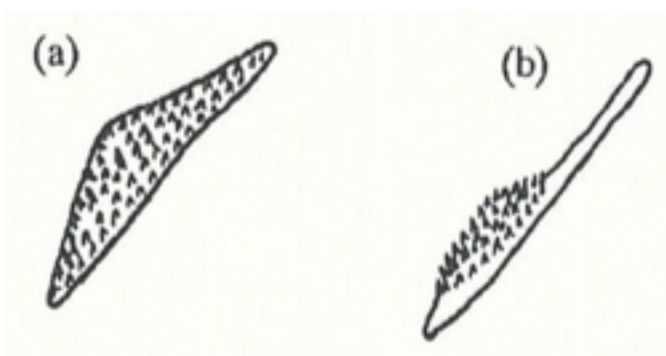


Figure 5 : 5e os cératobranchial et la dentition sur l'os (a) entière, b) sur la partie centrale) (Balushkin, 2000)

	1. <i>Acanthodraco dewitti</i> Skjara, 1995	2. <i>Pseudodraco breviceps</i> Norman, 1937	UNION
42. Nombre de ligne latérale	= 2	= 5	= 2 = 5

Tableau 4 : caractère discriminant entre *A. dewitti* et *P. breviceps*

3.2. Génétique

3.2.1. Historique - revue bibliographique

Aujourd'hui, la génétique occupe une place considérable dans le domaine de la phylogénie. Elle permet de différencier des espèces qui morphologiquement sont très proches.

Ainsi, elle permet d'être plus précis dans les travaux réalisés. Une application récente montre la nécessité de l'outil génétique pour valider les espèces décrites sur la base de la morphologie, la mise en synonymie. Ce fut notamment le cas chez les bathydraconidés. En 2011, Rey *et al.* montrent que les deux espèces *Gymnodraco acuticeps* et *Gymnodraco victori* Hureau, 1963, ne sont en fait qu'une seule et même espèce.

Cependant, bien que l'outil génétique s'avère indispensable pour être complet, la revue bibliographique montre que les résultats en morphologie et en moléculaire ne concordent pas. En effet, au cours des dernières années, les études ont été répétées un certain nombre de fois en prenant des gènes différents. Les résultats avec les gènes mitochondriaux 16S, 12S et COI montrent une paraphylie des bathydraconidés (Bargelloni *et al.*, 1994 ; Ritchie *et al.*, 1997 ; Stankovic *et al.* 2002 ; Near *et al.* 2004), mais l'analyse avec le cytochrome b et la région de contrôle, donnent une irrésolution (Derome *et al.*, 2002). Les résultats intégrant des gènes nucléaires n'obtiennent pas non plus la monophylie des bathydraconidés (Near *et al.*, 2012 ; Dettai *et al.*, 2012).

Il y a cependant une exception à tous ces résultats. En 2008, Near et Cheng obtiennent une monophylie de la famille des bathydraconidés en alliant les gènes nucléaires 16S, 12S et le premier intron du gène S7 (cf. Figure 7).

Cependant l'ensemble de ces résultats sont peu fiables. En effet, Bargelloni *et al.* en 1994 obtient une proximité de *G. acuticeps* avec les channichthyidés, mais les résultats n'étaient que très faiblement soutenus (faible valeur de bootstrap). En 1997, Les résultats de Ritchie *et al.* montrent le groupe des bathydraconidés coupé en deux avec une proximité entre *G. acuticeps* et les channichthyidés. Cependant, là aussi les résultats ne sont que très peu soutenus. En 2002, Stankovic *et al.* publient une nouvelle alternative avec une proximité des cygnodraconinés avec les harpagiferidés.

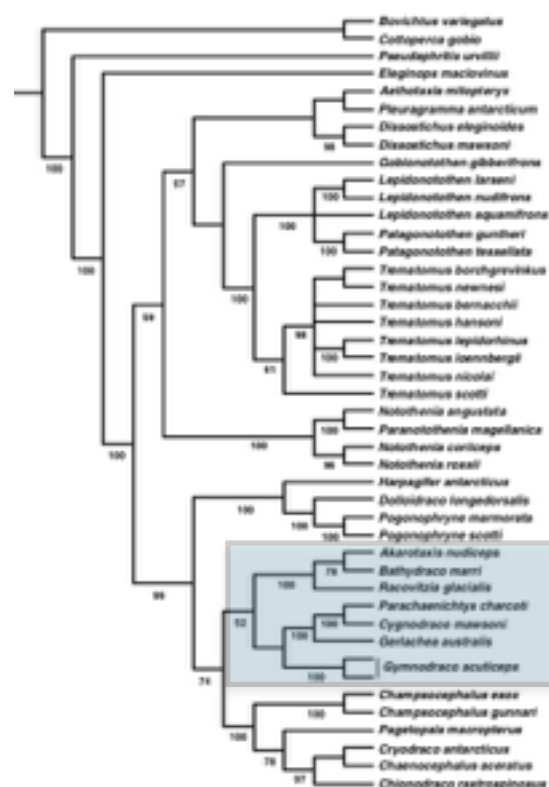


Figure 7 : Résultats obtenus par Near et Cheng en 2008

Seulement, là aussi, les résultats ne sont que peu soutenus. Dans la publication de Derome *et al.* de 2002, le problème de la résolution intervient. En effet, la résolution pour le groupe des bathydraconidés est faible (râteau regroupant les 3 sous-familles de bathydraconidés et les channichthyidés). De plus, la sous-famille des bathydraconinés ne sont que très faiblement soutenue. Near *et al.* en 2004 retrouvent des résultats semblables à ceux de Bargelloni *et al.* en 1994, une proximité entre les channichthyidés et *G. acuticeps*, mais une fois encore, le groupe n'est que faiblement soutenu. En 2012, Near *et al.* obtiennent une proximité des cygnodraconinés avec les artedidraconidés. Cependant la résolution de l'arbre est mauvaise. Dans l'étude de Dettai *et al.* de 2012, les auteurs obtiennent un arbre qui a une bonne robustesse (valeur de bootstrap élevée), cependant, là encore la paraphylie des bathydraconidés est encore le résultat. Pour l'étude de Near et Cheng en 2008, bien que le résultat obtenu soit la monophylie des bathydraconidés, ce résultat est contre balancé par une valeur de bootstrap faible.

3.2.2. Arbres

Après avoir fait tourner les logiciels pour l'ensemble des gènes étudiés, un arbre par gène est obtenu à partir des distances observées. L'arbre représenté par la figure 8 correspond à l'arbre de distance obtenu pour le gène COI. Tout d'abord, les spécimens écrits en orange représentent des spécimens problématiques, car ils ne sont pas retrouvés avec les spécimens de la même espèce, ce qui peut être dû à des erreurs d'identification ou de contamination. Ils sont retirés des analyses. Il est intéressant de noter que sur cet arbre, les bathydraconidés forment un groupe paraphylétique. En effet, ils partagent un ancêtre commun avec les channichthyidés. En revanche, les channichthyidés forment un groupe monophylétique. Il est intéressant aussi de signaler que la sous famille des bathydraconinés forment un groupe monophylétique. En revanche, les cygnodraconinés et les gymnodraconinés ne forment pas de groupes monophylétiques. De plus, les spécimens de *P. georgianus* sont les plus proches des channichthyidés.

Les arbres de distance pour chacun des gènes ont permis de mettre en évidence les erreurs de contamination ou d'identification (arbres non présentés ici). Cependant, l'arbre correspondant au gène PPM (Figure 9) montre que la résolution est très faible au sein de la famille des bathydraconidés. Cette faible résolution traduit une faible variabilité au sein de la famille.

Après avoir concaténé l'ensemble des séquences et exclu les spécimens selon les critères décrits dans le matériel et méthode, on obtient une matrice avec 95 spécimens et 2959 paires de bases dont 309 sites informatifs.

L'analyse de parcimonie donne 24 arbres équi-parcimonieux de 949 pas. La figure 10 montre le consensus strict de ces 24 arbres. Les arbres obtenus ont un CI = 0,5584 et un RI = 0,8882. Les premières observations permettent de distinguer les trois sous-familles de à partir des spécimens étudiés. En effet, chacune des sous-familles forment un groupe monophylétique. En revanche, dans cet arbre, les bathydraconidés ne forment pas un groupe monophylétique. En effet, les bathydraconinés (*R. glacialis*, *V. infuscipinnis*, *Bathydraco sp.*, *B. marri*, *A. nudiceps*, *P. evansi*) ont un ancêtre commun avec les channichthyidés (*Champscephalus gunnari*, *D. hunteri*, *N. ionah*, *Chaenocephalus aceratus*, *Chionobathyscus dewitti*, *Chionodraco sp.*).



Figure 8 : Arbre pour le gène COI obtenu par BioNJ avec une méthode de distance

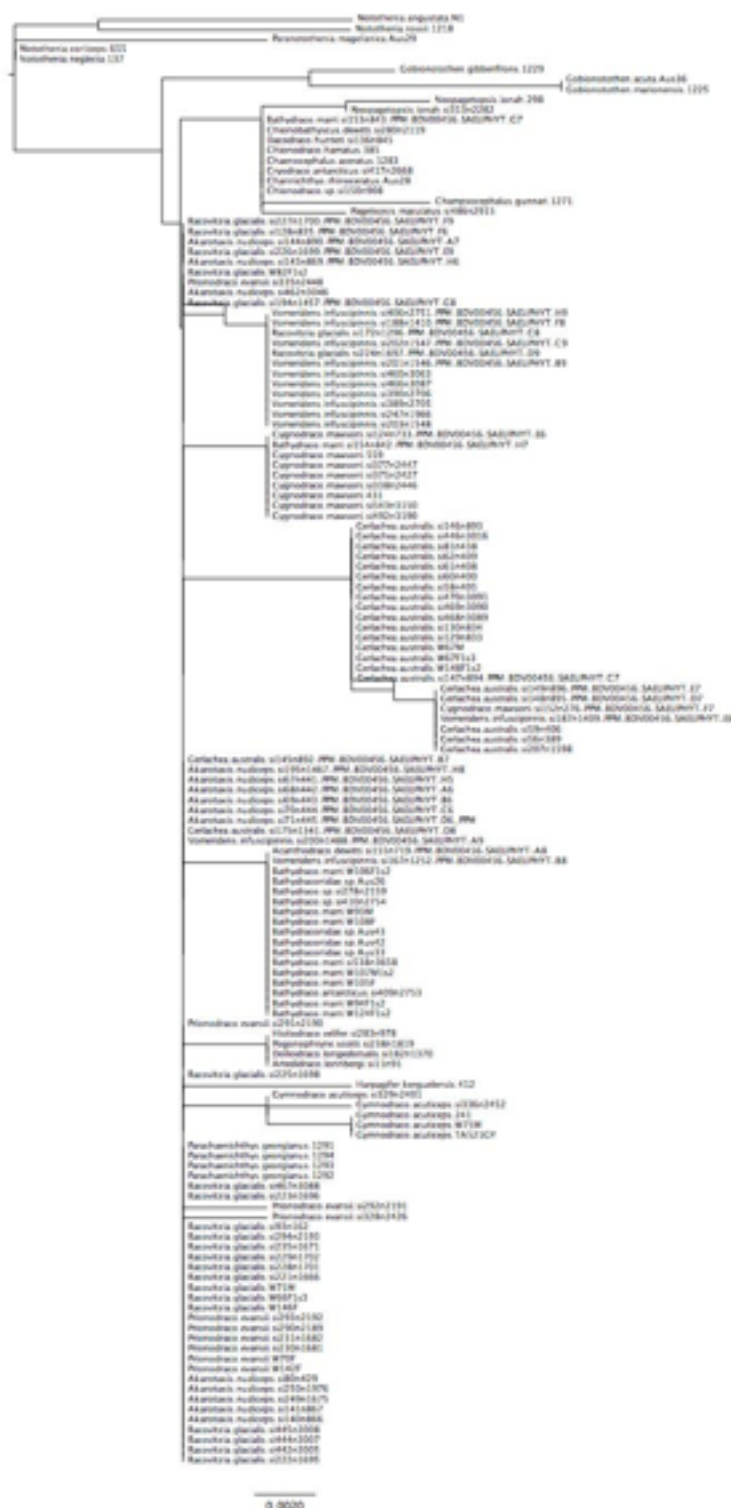


Figure 9 : Arbre pour le gène PPM obtenu par BioNJ avec une méthode de distance

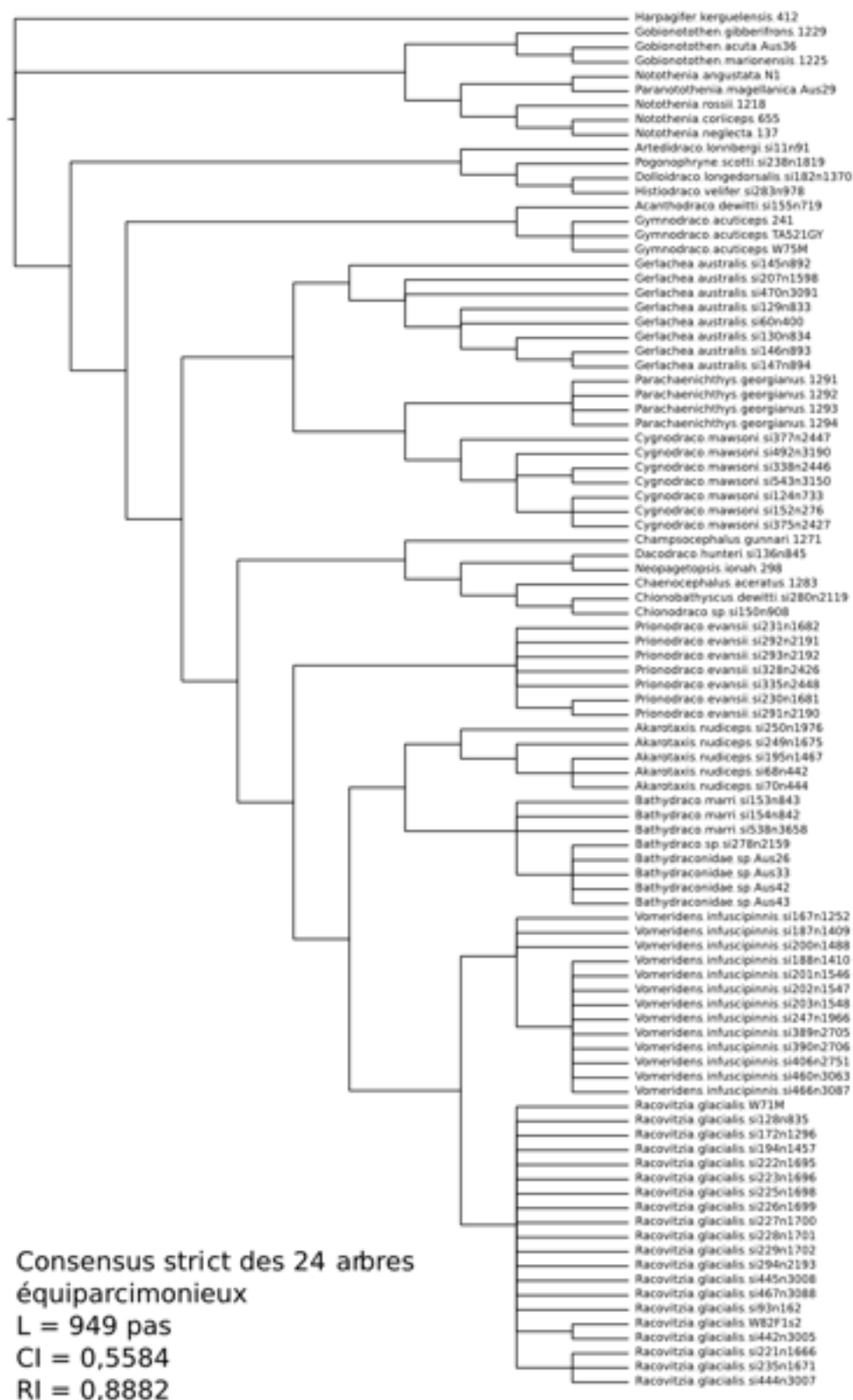


Figure 10 : Arbre phylogénétique obtenu à partir de 95 taxons pour les gènes *Rhodospine*, *PKD1*, *HECW*, *COI* et *PPM*

4. Discussion

Notre étude en morphologie a permis de compiler de nombreux de caractères caractéristiques de la famille des bathydraconidés mais aussi des sous-familles. Cependant, il n'a pas pu être fait d'analyse phylogénétique en l'absence des trois autres familles du Clade haut Antarctique.

L'ensemble de notre travail a été fait à partir de la littérature, néanmoins, certaines descriptions sont incomplètes. Il serait donc intéressant de compléter les données manquantes à partir d'observations sur des spécimens de collection ou des spécimens frais.

Nous avons mené un travail de standardisation des descriptions morphologiques des bathydraconidés à partir de textes anciens et plus récents. Cette standardisation a parfois nécessité une réinterprétation des descriptions faites par les auteurs. Il serait par conséquent intéressant de vérifier les descriptions morphologiques obtenues à partir de la littérature avec celle qu'il est possible de faire à partir d'observations morphologiques sur des spécimens de collection.

Il reste encore la question de la possible synonymie de *P. breviceps* et *A. dewitti* qui se ressemblent et qui se différencient par un seul caractère, le nombre de ligne latérales. Or, il se trouve que le nombre de lignes latérales peut varier chez certaines espèces en fonction de la taille du spécimen. Est-il alors judicieux d'utiliser un caractère variable avec l'âge et la taille du spécimen pour différencier deux espèces ? La morphologie ne pouvant pas répondre concrètement à cette question, il est aujourd'hui impossible de faire autre chose que des suppositions. Cette question pourrait être résolue à l'aide de l'outil génétique.

En ce qui concerne *R. glacialis* et *R. harrissoni*, ce sont des espèces qui sont très proches, cependant, il est aujourd'hui difficile de prouver la synonymie de ces deux espèces. En effet, *R. harrissoni* n'a plus été pêché depuis 1937. Bien que n'ayant pas été prouvé et publiée, la synonymie de ces deux espèces semble évidente, à tel point que certains auteurs les considèrent déjà comme une seule espèce (Gon et Heemstra, 1990).

Notre recherche bibliographique montre que dans les études moléculaires antérieures, les bathdraconidés sont trouvés paraphylétiques de façon récurrente. Cependant, ces résultats sont à nuancer par le manque de résolution et de robustesse des arbres dans les publications. Une étude plus approfondie en augmentant le nombre de spécimens, pourrait remédier à ce problème. En ce qui concerne les gènes étudiés, ceux étudiés par Dettai *et al.* en 2012 donnent de bons résultats en ce qui concerne la robustesse, ce qui nous conforte dans le choix des gènes de notre étude. Cependant, les 309 sites informatifs utilisés pour modéliser l'arbre ne constituent que 8,45 % de l'ensemble des séquences. Cette valeur est très faible, ce qui permet d'affirmer que les gènes étudiés ne sont pas suffisant variables et qu'une autre étude s'impose en prenant d'autres gènes plus variable au sein de la famille des bathydraconidés.

Notre analyse moléculaire a permis de montrer la paraphylie des bathydraconidés, ce qui vient confirmer les études moléculaires antérieures. Cependant, il serait intéressant de préciser nos résultats en étudiant la robustesse de l'arbre mais aussi en utilisant d'autres méthodes de reconstruction phylogénétique. Il serait aussi intéressant d'ajouter certaines espèces dont les séquences manquent. De plus, l'identification des espèces dont le genre est connu mais pas l'espèce pourrait permettre d'affiner et d'améliorer nos résultats. Il est donc nécessaire de retourner voir ces spécimens en collection pour confirmer leur identification. De plus, une analyse de bootstrap permettant de tester la robustesse des noeuds s'impose. Il serait aussi intéressant de modifier la méthode d'analyse, par exemple se pencher sur une méthode bayésienne

Enfin, afin d'être plus clair à la lecture, il serait intéressant de nettoyer l'arbre contenant les résultats en regroupant les spécimens qui sont identiques, ce qui permettrait d'avoir une meilleure vue d'ensemble des résultats en phylogénie moléculaire.

5. Conclusion et Perspectives

Pour conclure, nous cherchions à tester la monophylie des bathydraconidés. Cependant, les résultats actuels mettent en évidence que la famille des bathydraconidés constitue un groupe paraphylétique. Néanmoins, nos résultats sont préliminaires et ne permettent pas de conclure de manière définitive. Des tests de robustesse sont nécessaires. Au niveau de l'étude moléculaire, nous avons fait tourner les logiciels qu'avec une seule méthode. Il serait aussi intéressant d'utiliser une autre méthode.

En morphologie, pour pouvoir avancer, il faut tout d'abord commencer par décrire et insérer dans la matrice les extra-groupe à partir desquels on va pouvoir formuler des hypothèses d'homologies. La matrice actuelle n'étant pas complète, un retour aux spécimens semble indispensable pour la compléter. De plus, bien qu'elle puisse identifier toutes les espèces de bathydraconidés, il est nécessaire de faire un tri et d'identifier les caractères qui ont une valeur phylogénétique, les caractères catégoriques. À l'heure actuelle, aucun travail sur la phylogénie n'a été réalisé à partir de la morphologie.

Une fois la matrice morphologique complétée et les résultats moléculaires vérifiés, il sera alors possible de réaliser une analyse combinée.

Bibliographie

- BALUSHKIN, A.V., AND VOSKOBOÏNIKOVA, O.S. (1995). Systematics and Phylogeny of Antarctic Dragonfishes (Bathydraconidae, Notothenioidei, Perciformes). *Journal of Ichthyology* 34, 89–104.
- BALUSHKIN, A.V. (2000). Morphology, Classification, and Evolution of Notothenioid Fishes of the Southern Ocean (Notothenioidei, Perciformes). *Journal of Ichthyology* S74–S109.
- BALUSHKIN, A.V. (2011). *Antarkticheskie ploskonosovye ryby (Bathydraconidae)* (Sankt Peterburg: Nauka).
- BARGELLONI, L., RITCHIE, P.A., PATARNELLO, T., BATTAGLIA, B., LAMBERT, D.M., and MEYER, A. (1994). Molecular evolution at subzero temperatures: mitochondrial and nuclear phylogenies of fishes from Antarctica (suborder Notothenioidei), and the evolution of antifreeze glycopeptides. *Molecular Biology and Evolution* 11, 854–863.
- BOULENGER, G.A. (1902). Pisces. In *Report on the Collections of Natural History Made in the Antarctic Regions during the Voyage of the "Southern Cross."* (London: Lankaster E.R.), pp. 174–189.
- BOULENGER, G.A. (1907). Fishes. In *Natural History, (British Museum (Natural History))*, pp. 4–5.
- CLARKE, A., & JOHNSTON, I.A. (1996). Evolution and adaptive radiation of antarctic fishes. *Trends in Ecology & Evolution* 11, 212–218.
- DEROME, N., CHEN, W.-J., DETTAÏ, A., BONILLO, C., and LECOINTRE, G. (2002). Phylogeny of Antarctic dragonfishes (Bathydraconidae, Notothenioidei, Teleostei) and related families based on their anatomy and two mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 24, 139–152.
- DETTAI, A., BERKANI, M., LAUTREDOU, A.-C., COULOUX, A., LECOINTRE, G., OZOUF-COSTAZ, C., and GALLUT, C. (2012). Tracking the elusive monophyly of nototheniid fishes (Teleostei) with multiple mitochondrial and nuclear markers. *Marine Genomics* 8, 49–58.
- DEWITT, H.H. (1964). A Revision of the Antarctic Genus *Racovitzia* (Pisces, Bathydraconidae). *Copeia* 1964, 496–506.
- DEWITT, H.H. (1985). Reports on fishes of the University of Southern California Antarctic Research Program, 1962–1968. I. A review of the genus *Bathyraco* Günther (family Bathydraconidae). *Cybiu* 9, 295–314.
- DOLLO, L. (1900). Bull. de la Classe des Sciences de l'Acad. roy. de Belgique. *Gerlachea australis* Poisson abyssal nouveau recueilli par l'Expédition antarctique belge. *Communication préliminaire*. 194–206.

- DOLLO, L. (1906). *Bathyraco scotiae*, poisson abyssal nouveau recueilli par l'Expédition antarctique nationale écossaise. *Proceeding of Royal Society of Edinburgh* 26, 65–75.
- FISCHER, J.G. (1885). Ichtyologisches und herpetologisches Bemerkungen. In *Jahrbuch der Hamburgischen Wissenschaftlichen Anstalten.*, pp. 50–53.
- GON O. AND HEEMSTRA P.C.(1990). Bathydraconidae. In *Fishes of the Southern Ocean*, eds. (Grahamstown, South Africa: J.L.B. Smith Institute of Ichthyology), pp. 394–380.
- GOUY, M., GUINDON, S., and GASCUEL, O. (2010). SeaView Version 4: A Multiplatform Graphical User Interface for Sequence Alignment and Phylogenetic Tree Building. *Molecular Biology and Evolution* 27, 221–224.
- GÜNTHER, A. (1878). II.— *Preliminary notices of Deep-Sea Fishes collected during the Voyage of H.M.S. "Challenger."* *Ann. Mag. Nat. Hist.* 2, 17–28 ; 179–187 ; 248–251.
- IWAMI, T. (1985). Osteology and relationships of the family Channichthyidae. *Memoirs of National Institute of Polar Research*. Ser. E, Biology and Medical Science 36, 1–69.
- LECOINTRE, G., and OZOUF-COSTAZ, C. (2004). Les poissons antigel de l'Océan Austral. *Pour la Science* 48–54.
- LECOINTRE, G. (2012). Phylogeny and Systematics of Antarctic Teleosts: Methodological and Evolutionary Issues. In *Adaptation and Evolution in Marine Environments*, Volume 1, G. di Prisco, and C. Verde, eds. (Springer Berlin Heidelberg), pp. 97–117.
- NEAR, T.J., PESAVENTO, J.J., and CHENG, C.-H.C. (2004). Phylogenetic investigations of Antarctic notothenioid fishes (Perciformes: Notothenioidei) using complete gene sequences of the mitochondrial encoded 16S rRNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 32, 881–891.
- NEAR, T.J., and CHENG, C.-H.C. (2008). Phylogenetics of notothenioid fishes (Teleostei: Acanthomorpha): Inferences from mitochondrial and nuclear gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47, 832–840.
- NEAR, T.J., DORNBURG, A., KUHN, K.L., EASTMAN, J.T., PENNINGTON, J.N., PATARNELLO, T., ZANE, L., FERNANDEZ, D.A., and JONES, C.D. (2012). Ancient climate change, antifreeze, and the evolutionary diversification of Antarctic fishes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109, 3434–3439.
- NORMAN, J.R. (1937). LV.— Diagnoses of new Nototheniiform fishes collected by the "Discovery" Expedition. *The annals and magazine of natural history* 20 (118), 475–476.
- NORMAN, J.R. (1938). Coast fishes. Part III. The Antarctic zone. *Discovery Reports* 18, 1–105.
- REGAN, C.T. (1913). Antarctic fishes of the Scottish National Antarctic expedition. In *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, (Edinburgh: Robert Grant & Son), pp. 229–292.
- REGAN, C.T. (1914). Diagnoses of new marine fishes collected by the British Antarctic ('Terra Nova') Expedition. *Ann. Mag. Nat. Hist.* 13, 11–17.

RITCHIE, P.A., LAVOUÉ, S., and LECOINTRE, G. (1997). Molecular phylogenetics and the evolution of Antarctic notothenioid fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 118, 1009–1025.

ROCK, J., COSTA, F.O., WALKER, D.I., NORTH, A.W., HUTCHINSON, W.F., and CARVALHO, G.R. (2008). DNA barcodes of fish of the Scotia Sea, Antarctica indicate priority groups for taxonomic and systematics focus. *Antarctic Science* 20, pp 253-262

SKORA, K.E. (1995). *Acanthodraco dewitti* gen. et sp. n. (Pisces, Bathydraconidae) from Admiralty Bay (King George Island, South Shetland Islands, Antarctica). *Arch. Fish. Mar. Res.* 42, 283–289.

STANKOVIC, A., SPALIK, K., KAMLER, E., BORSUK, P., and WEGLENSKI, P. (2002). Recent origin of sub-Antarctic notothenioids. *Polar Biology* 25, 203–205.

VAILLANT, L. (1906). Sur une nouvelle espèce de *Chaenichthys* provenant de l'expédition antarctique française sous le commandement du Dr. Jean Charcot. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle* 12, 246–247.

WAITE, E.R. (1916). Fishes. *Scient. Rep. Australas. Antarct. Exped* 3, 1–92.

Base de données consultées

BiblioVie : <http://bibliovie.inist.fr/>

Biodiversity Heritage library : <http://www.biodiversitylibrary.org/>

Catalogue SUDOC : <http://www.sudoc.abes.fr/>

Fishbase : <http://www.fishbase.org/>

Google Scholar : <http://scholar.google.fr/>

Portail documentaire Muséum national d'histoire Naturelle de Paris : <http://bibliotheques.mnhn.fr/medias/medias.aspx?INSTANCE=EXPLOITATION>

Portail documentaire du Muséum d'histoire naturelle de Londres : <http://www.nhm.ac.uk/research-curation/science-facilities/library/index.html>

Web of Sciences : http://apps.webofknowledge.com.gate1.inist.fr/UA_GeneralSearch_input.do?product=UA&search_mode=GeneralSearch&SID=Z1H8OWz26ulARtldKKT&preferencesSaved=

Résumé :

Les Notothenioidei sont le groupe de poissons téléostéens le plus diversifié de l'Océan Austral. De nombreux chercheurs se sont penchés sur leur phylogénie et notamment dans le cadre du projet REVOLTA, une étude porte sur la phylogénie d'une famille de notothenioides : les Bathydraconidae. En effet, de nombreuses recherches permettent aujourd'hui d'avoir une idée précise de la phylogénie des notothenioides. Seulement dans l'ensemble de ces recherches, la phylogénie des bathydraconidés reste imprécise. Pour cela, après avoir effectué une revue bibliographique sur les bathydraconidés, la monophylie des bathydraconidés est testée par le biais de deux méthodes. La première est une méthode morphologique tandis que la seconde est moléculaire. La méthode morphologique se base sur les publications antérieures pour construire une matrice dans le but de formuler des hypothèses d'homologie. La méthode moléculaire repose sur une étude antérieure de Dettai *et al.* de 2012. En effet, elle reprend les mêmes gènes en augmentant le nombre de spécimens et en se focalisant plus sur les bathydraconidés. Les gènes étudiés sont: COI, PKD1, rhodospine, HECW, PPM. Les résultats en morphologie permettent de discriminer les différentes sous familles de bathydraconidés. L'étude moléculaire montre la paraphylie de la famille des bathydraconidés. La famille des channichthyidés se retrouve placée au sein de la famille des bathydraconidés. Cependant, la robustesse de ce résultat n'est pas encore connue, il sera donc nécessaire de compléter cette étude dans le futur.

Mots clés : Océan Austral, Notothenioidei, Bathydraconidae, phylogénie, morphologie, analyse moléculaire, revue bibliographique, parcimonie, cytochrome oxidase I, paraphylie.