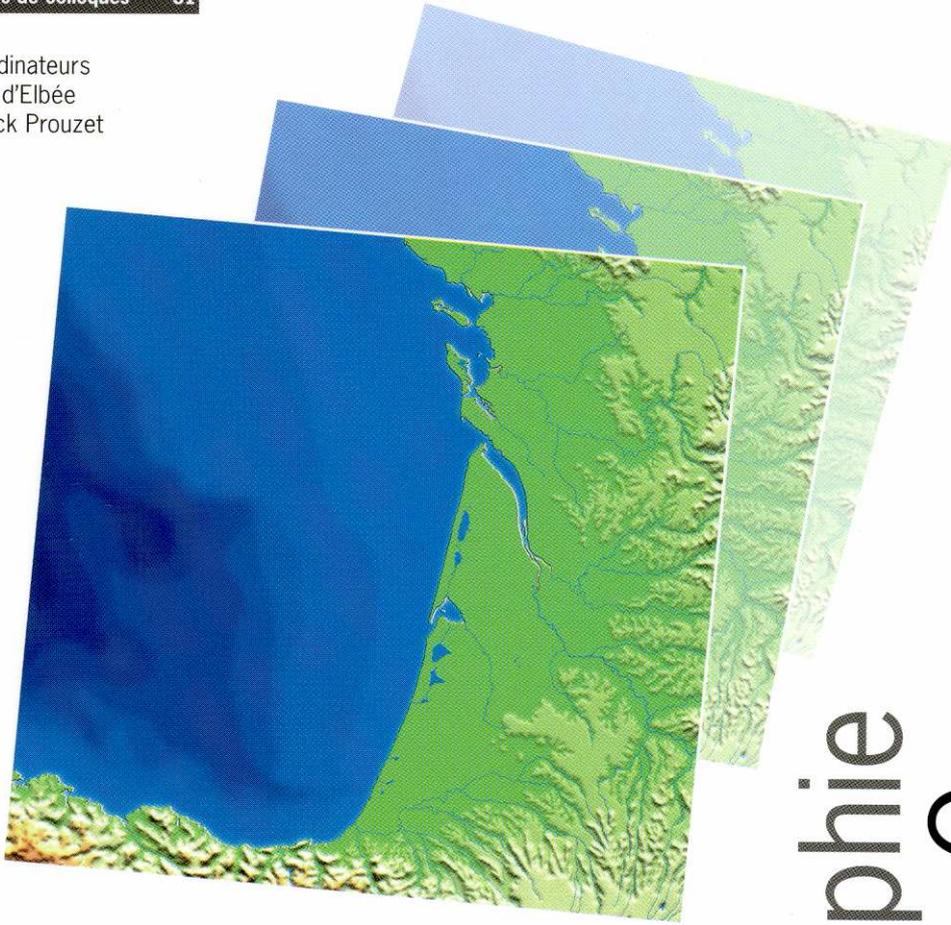


VII<sup>e</sup> colloque international  
Biarritz  
4-6 avril 2000

actes de colloques 31

Coordinateurs  
Jean d'Elbée  
Patrick Prouzet



# Océanographie du golfe de Gascogne

31

Ifremer



## Polymorphisme moléculaire des populations atlantiques et méditerranéennes d'océanite tempête *Hydrobates pelagicus*

---

Christine Cagnon<sup>(1)</sup>, Béatrice Lauga<sup>(1)</sup>, Frank d'Amico<sup>(1)</sup>, Jacques Nisser<sup>(2)</sup>, Jean-Claude Thibault<sup>(3)</sup>, Jean d'Elbée<sup>(4)</sup>, Georges Hémerly<sup>(5)</sup>, Claude Mouchès<sup>(1)</sup>

---

(1) Université de Pau et des Pays de l'Adour, UFR Sciences et Technologies, laboratoire d'écologie moléculaire, Parc Montaury, BP 155, 64601 Anglet, France

(2) Centre de recherches sur la biologie des populations d'oiseaux, 55 rue Buffon, 75005 Paris, France

(3) Parc naturel régional de Corse, BP 417, 20184 Ajaccio Cedex, France

(4) Laphy, CERS/Musée de la mer, BP 89, 64202 Biarritz, France

(5) Muséum national d'histoire naturelle, centre de recherches sur la biologie des populations d'oiseaux, station maritime, plateau de l'Atalaye, 64202 Biarritz, France  
christine.cagnon@univ-pau.fr

### Résumé

---

Les zones de reproduction de l'océanite tempête *Hydrobates pelagicus* se limitent à l'Atlantique nord oriental et à la Méditerranée occidentale. Les colonies atlantiques semblent actuellement totalement isolées géographiquement des méditerranéennes, aucun échange ni déplacement de ces oiseaux entre la Méditerranée et l'Atlantique n'ayant été observé depuis plusieurs décennies. La distinction de deux sous-espèces, *H. p. pelagicus* pour l'Atlantique et *H. p. melitensis* pour la Méditerranée, a été proposée en 1985 par Hémerly & d'Elbée sur la base de différences morphologiques, en particulier celles de la taille du bec.

Des colonies atlantiques et une colonie méditerranéenne ont été comparées entre elles par l'analyse de marqueurs moléculaires. Sur la base de la séquence nucléotidique du gène mitochondrial codant pour le cytochrome *b*, les colonies atlantiques montrent un faible polymorphisme. Les individus de la colonie méditerranéenne sont, eux, semblables entre eux et différent des individus atlantiques. L'approche moléculaire confirme donc l'existence de deux entités biologiques distinctes, se situant sur le plan taxonomique au niveau minimum de la sous-espèce. Elle suggère qu'il n'y a pas eu d'échange génétique récent entre ces deux métapopulations. D'autres marqueurs moléculaires sont en cours d'analyse pour étudier la structuration au sein des deux sous-espèces.

### Abstract

---

The storm petrel *Hydrobates pelagicus* reproduction area is limited to the north oriental Atlantic Ocean and the occidental Mediterranean Sea. The Atlantic colonies seem to be completely isolated geographically from the Mediterranean ones, since no exchange and no moving have been observed in decades. In 1985, Hémerly & d'Elbée proposed

to distinguish two subspecies, based on morphometrical differences: *H. p. pelagicus* for the Atlantic and *H. p. melitensis* for the Mediterranean. Some Atlantic colonies and one Mediterranean colony were compared with the analysis of molecular markers. On the base of the nucleotidic sequence of the mitochondrial gene for the cytochrome *b*, the Atlantic colonies show a slight polymorphism. The individuals of the Mediterranean colony are similar between them but are different from the Atlantic individuals. Thus, the molecular approach confirms the existence of two distinct biological entities, at the minimum level of the subspecies. This suggests that no genetic exchange took place recently between these two metapopulations. The analysis of other molecular markers are in progress for the study of the structuration inside these two subspecies.

### Introduction

---

L'océanite tempête *Hydrobates pelagicus* est un oiseau pélagique de petite taille. Visible à terre au moment de la période de reproduction, de mai à septembre environ, il niche dans des terriers naturels situés sur des falaises ou des îlots (Hémery, 1991). Les zones de reproduction (fig. 1) se limitent à l'Atlantique Nord oriental et à la Méditerranée occidentale (Hémery, 1994).

Les colonies atlantiques semblent actuellement totalement isolées géographiquement des méditerranéennes, aucun échange ni aucun déplacement entre la Méditerranée et l'Atlantique n'ayant été observé depuis plusieurs dizaines d'années. En 1985, Hémery & d'Elbéc ont pu montrer des différences morphologiques, en particulier grâce à des mesures sur le bec, entre les oiseaux de ces deux métapopulations. La distinction de deux sous-espèces est depuis proposée : *Hydrobates pelagicus pelagicus* pour l'Atlantique et *Hydrobates pelagicus melitensis* pour la Méditerranée.

Nous avons récemment entrepris d'étudier la diversité génétique de ces populations d'oiseaux au niveau moléculaire, en analysant les variations des séquences d'ADN. Selon le niveau de variation étudié (colonie, population, métapopulation ou espèce) différentes séquences du génome seront explorées. Notre premier objectif consistant à évaluer la diversité présente dans l'espèce, nous avons choisi de travailler avec l'ADN mitochondrial (ADN mt). Celui-ci possède en effet une vitesse d'évolution 5 à 10 fois supérieure à celle de l'ADN nucléaire (Brown *et al.*, 1979). L'avantage de l'ADN mt, outre cette vitesse d'évolution, est que l'on n'observe ni réassortiment ni recombinaison lors de la transmission à la descendance (transmission maternelle pour la majorité des espèces). Les mutations fixées sont donc sélectivement neutres et l'analyse de ces mutations peut donner une notion de temps dans la mesure où elles se fixent de façon régulière (Hillis & Moritz, 1990). On parle d'horloge moléculaire. L'ADN mt se trouve donc être l'outil le plus approprié pour réaliser des phylogénies d'espèces ou de sous-espèces, ou pour comparer des populations entre elles (Avisé, 1989 ; Wenink *et al.*, 1993 ; Austin, 1996 ; Nunn *et al.*, 1996 ; Mundy *et al.*, 1997 ; Questiau *et al.*, 1998 ; Nunn & Stanley, 1998).

Deux régions de l'ADN mt sont les plus étudiées : le gène codant pour le cytochrome *b* et la région de contrôle, site d'initiation de la réplication qui, étant non codant, possède une vitesse d'évolution supérieure à celle du reste de la molécule. Pour débiter l'étude des océanites tempête, nous nous sommes tout d'abord focalisés sur le gène du cytochrome *b*.

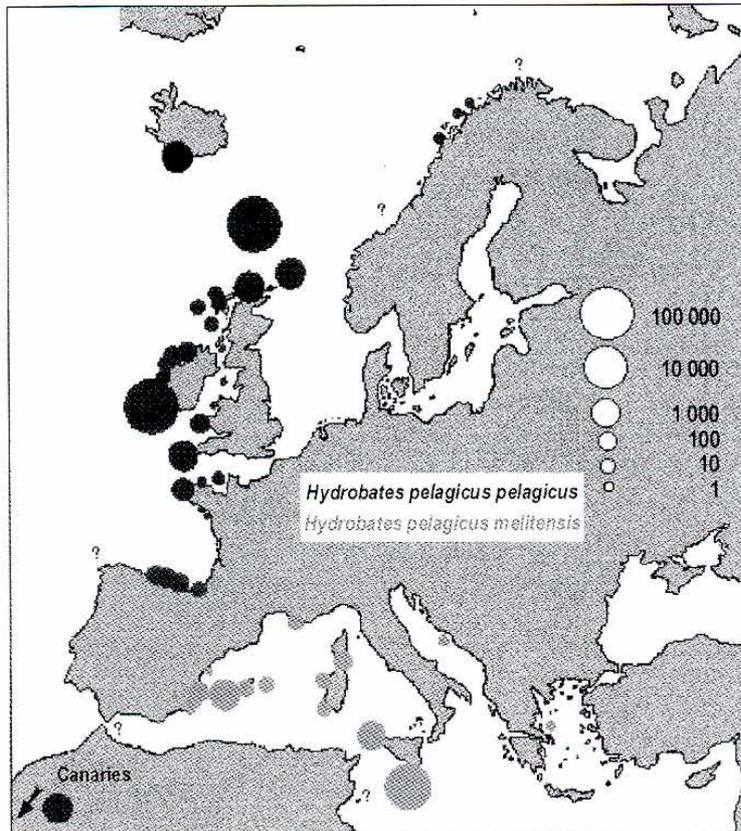


Figure 1 · Lieux de reproduction de l'océanite tempête.

### Matériel et méthodes

L'extraction d'ADN est réalisée principalement à partir de sang prélevé sur les oiseaux lors de campagnes d'observation sur le terrain (tab. 1). Les échantillons concernent, pour l'Atlantique, un oiseau trouvé mort à Lorient, cinq oiseaux capturés à Banneg, au nord du golfe de Gascogne, et quatre oiseaux des colonies de Biarritz. Un onzième oiseau, provenant des îles Féroé, au nord de l'Europe, a été préalablement analysé par Nunn & Stanley (1998). Pour la Méditerranée, quatre oiseaux sont étudiés, provenant de la Corse du Sud.



Afin d'analyser le polymorphisme de séquence du gène mitochondrial du cytochrome *b*, nous avons purifié par amplification génique (PCR), grâce à des amorces nucléotidiques spécifiques, une portion de 970 pb correspondant à la presque-totalité de ce gène (1123 pb ; fig. 2). L'amplification a été réalisée sur l'ADN total de différents oiseaux d'Atlantique et de Méditerranée. Chaque fragment obtenu a été séquencé sur séquenceur automatique.

## Résultats

Le tableau 2 présente tous les sites polymorphes trouvés sur ces 970 pb du gène du cytochrome *b* de l'ADN mt. On note neuf sites polymorphes sur les 970 positions analysées, dus uniquement à des substitutions de bases. Les quinze océanites tempêtes analysés sont regroupés en quatre haplotypes. L'haplotype 1 est trouvé chez neuf des océanites tempêtes atlantiques sur les onze oiseaux atlantiques analysés. Les deux haplotypes 2 et 3 sont caractérisés par une seule substitution de base par rapport à l'haplotype 1. Ces deux haplotypes sont, pour chacun d'entre eux, trouvés chez un seul oiseau atlantique : un oiseau de Biarritz, originaire de l'ilot du Bouccalot, et un oiseau séquencé précédemment par Nunn & Stanley (1998), provenant des îles Féroé, archipel du nord de l'Europe qui est le site majeur pour la reproduction des océanites tempête. L'haplotype 4 est, lui, différent de l'haplotype 1 en sept positions et est présent chez tous les oiseaux corses analysés.

Tableau 2 - Sites polymorphes dans le gène mitochondrial du cytochrome *b* des individus analysés.

		117	126	165	282	288	744	771	822	837	
Atlantique	Lorient	C	C	C	T	T	A	C	A	A	
	Banneg	.	.	.	.	.	.	.	.	.	haplotype 1
	Biarriz (3 sur 4)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
	Biarriz (1 sur 4)	.	.	.	.	.	G	.	.	.	haplotype 2
	Féroé (Nunn & Stanley, 1998)	.	.	.	.	A	.	.	.	.	haplotype 3
Méditerranée	Corse	T	T	T	C	.	.	A	G	G	haplotype 4

## Discussion et conclusion

On note donc *a priori* une différence nette entre les deux métapopulations atlantique et méditerranéenne, confirmant ainsi les études morphologiques effectuées par Hémerly & d'Elbéc (1985) sur la taille et la forme du bec. Il est possible d'évaluer l'isolement génétique à environ 200 000 ans. Ce résultat correspond, sur le plan taxonomique, au niveau minimum de la sous-espèce.

Nos résultats montrent d'ores et déjà une hétérogénéité de la métapopulation atlantique. La population de Banneg semble homogène. En revanche,

celle de Biarritz est hétérogène puisque l'on note un singleton sur les quatre individus étudiés. Un échantillonnage plus large est nécessaire pour estimer plus précisément le niveau d'hétérogénéité. Enfin, sur les îles Féroé, le seul individu analysé est différent de l'échantillonnage fait sur le reste de l'Atlantique. D'autres oiseaux du nord de l'Europe doivent ainsi être analysés.

En ce qui concerne la métapopulation méditerranéenne, un seul site géographique a été étudié. Nous nous attachons à analyser d'autres populations méditerranéennes pour confirmer ou non l'homogénéité de cette métapopulation.

Ces résultats intéressants ne représentent qu'une analyse exploratoire. Une collection plus étendue d'échantillons tant en nombre qu'en sites géographiques est nécessaire pour une étude complète. Néanmoins, il faut noter que l'échantillonnage est rendu difficile du fait même de l'écologie de cet oiseau. De plus, nous poursuivons l'analyse du gène du cytochrome *b*, mais nous l'étendons dorénavant à la région de contrôle de l'ADNmt.

Enfin, cette étude s'inscrit dans un programme large où nous cherchons, par l'analyse de la biodiversité au niveau moléculaire, à déterminer la structuration génétique des populations d'océanites tempête. Nous nous intéressons notamment à l'impact des pollutions chimiques sur cette structuration ; c'est pourquoi nos recherches s'engagent également sur l'étude de séquences nucléaires, en particulier les séquences satellites hypervariables ou les gènes des protéines impliquées dans la toxicité de certains polluants.

### **Références bibliographiques**

- Austin J.J., 1996. Molecular phylogenetics of *Puffinus* shearwaters: preliminary evidence from mitochondrial cytochrome *b* gene sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 6, 77-88.
- Avice J.C., 1989. Gene trees and organismal histories: a phylogenetic approach to population biology. *Evolution*, 43, 1192-1208.
- Brown W.M., George M., Wilson A.C., 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 76, 1967-1971.
- Hémery G., Elbée É. (d'), 1985. Discrimination morphologique des populations atlantique et méditerranéenne de pétrel tempête *Hydrobates pelagicus*. In: Oiseaux marins nicheurs du Midi et de la Corse. *Ann. CROP*, 2, 63-67.
- Hémery G., 1991. Pétrel tempête, *Hydrobates pelagicus*. In: Atlas des oiseaux de France en hiver. Yeatman-Berthelot & Jarry, Société ornithologique de France (éd.), 60-61.

- Hémery G., 1994. Océanite tempête, *Hydrobates pelagicus*. In: Nouvel atlas des oiseaux nicheurs de France (1985-1989). Yeatman-Berthelot D. & Jarry G. Société ornithologique de France (éd.), 76-77.
- Hillis D.M., Morritz C. (eds), 1990. Molecular systematics. Sinauer Associates Inc., Sunderland, 588 p.
- Mundy N.I., Wincell C.S., Woodruff D.S., 1997. Genetic differences between the endangered San Clemente Island loggerhead shrike *Lanius ludovicianus meamsi* and two neighbouring subspecies demonstrated by mtDNA control region and cytochrome *b* sequence variation. *Mol. Ecol.*, 6, 29-37.
- Nunn G.B., Cooper J., Jouventin P., Robertson C.J.R., Robertson G.G., 1996. Evolutionary relationships among extant albatrosses (Procellariiformes: Diomedecidae) established from complete cytochrome *b* gene sequences. *The Auk*, 113, 784-801.
- Nunn G.B., Stanley S.E., 1998. Body size effects and rates of cytochrome *b* evolution in tube-nosed seabirds. *Mol. Biol. Evol.*, 15, 1360-1371.
- Questiau S., Eybert M.-C., Gaginskaya A.R., Gielly L., Taberlet P., 1998. Recent divergence between two morphologically differentiated subspecies of bluethroat (Aves: Muscicapidae: *Luscinia svecica*) inferred from mitochondrial DNA sequence variation. *Mol. Ecol.*, 7, 239-245.
- Wenink P.W., Baker A.J., Tilanus M.G.J., 1993. Hypervariable-control-region sequences reveal global population structuring in a long-distance migrant shorebird, the dunlin (*Calidris alpina*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 94-98.