

COMPTES RENDUS DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES

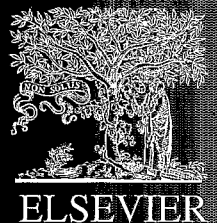
SÉRIE III

CRASEV • ISSN 0764-4469



SCIENCES
DE LA VIE
LIFE SCIENCES

Tome 322 • N° 4 • 257-352 • Avril 1999



Rédaction / *Editorial board*: 23, quai de Conti, 75006 Paris, France

Tél. : (33) 01 44 41 43 69. Fax : (33) 01 44 41 43 74. comptes-rendus@acad-sciences.institut-de-france.fr

Objet de la revue / Objective of the Journal: Les *Comptes rendus de l'Académie des sciences* sont ouverts à tous les scientifiques, quels que soient leur titre et leur nationalité. Une note aux *Comptes rendus* est la première relation brève d'une découverte importante ou d'un résultat significatif. Elle bénéficie d'une publication rapide après son acceptation définitive, et permet ainsi de prendre date. / *The Comptes rendus de l'Académie des sciences are open to all scientists, whatever their title or nationality. An article published in the Comptes rendus is the first report of an important discovery or a significant result. It benefits from a fast publication schedule once it has been definitively accepted, which makes it possible to establish priority.*

Directeur de la publication / Editorial director: FRANÇOIS GROS

Rédacteur en chef / Editor-in-chief: JEAN ROSA

Rédacteurs en chef adjoints / Associate editors: PIERRE BUSER, MICHEL THELLIER

Secrétaires scientifiques / Scientific secretaries: MARIE-LOUISE CHAMPIGNY, HENRI WAJCMAN

Comité de rédaction / Editorial board: A. Adoutte, J.-F. Bach, É.-É. Baulieu, H. Chap, I. Dawid (Bethesda, USA), H. Décamps, L. Dubertret, H. Galjaard (Rotterdam, the Netherlands), P. Gruss (Goettingen, Germany), J. Hoffmann, A. Klier, H. Korn, P. Kourilsky, N. Le Douarin, B. Mach (Geneva, Switzerland), J. Mallet, D. Mathis, R. Monier, M. van Montagu (Ghent, Belgium), J.-P. Mornon, G. Nossal (Victoria, Australia), J.-P. Revillard, C.A. Rodriguez-Pousada (Oeiras, Portugal), P. Tambourin, J.-P. Tassin, J.-P. Thiéry, G. Tocchini-Valentini (Roma, Italy), J.L. Vives-Corrons (Barcelona, Spain), M. Yaniv

Indexation: BIOSIS, Cambridge Scientific Abstracts, Current Contents/Life Sciences, Excerpta Medica/EMbase, Geoabstracts, Geobase, Index Medicus (Medline), Pascal, Science Citation Index.



ÉDITIONS
ELSEVIER

23, rue Linois
75724 Paris cedex 15, France
<http://www.elsevier.fr>

Membre d'Elsevier Science
Éditions scientifiques et médicales Elsevier
SAS au capital de 80 250 000 F - 399 113 877 RCS Paris

Président-directeur général : Catherine Lucet

Département Sciences de la nature et de la vie / *Life Sciences Department*

Tél : (33) 01 45 58 90 22 - Fax : (33) 01 45 58 94 21

Secrétaire d'édition / *Desk editor* - Frédéric Fabre : Tél : (33) 01 45 58 90 20. f.fabre@elsevier.fr

Publicité / *Advertising* - Alain Meyer Abbatucci : Tél : (33) 01 45 58 90 48. a.meyer@elsevier.fr

Abonnements / *Subscriptions*

Tél : (33) 01 45 58 90 67 - Fax : (33) 01 45 58 94 24. abt2@elsevier.fr

1999 (tome / *volume* 322) Un an / *annual subscription*; 12 numéros / *12 issues*:

- France: 3 200 FF
 - UE (TVA 2,1 % incluse ; pour en être exempté, il faut fournir le numéro de TVA intracommunautaire) / *EU (with 2.1 VAT; for tax exemption, VAT registration number must be indicated)*: 4 370 FF
 - Autres pays / *Rest of the world*: 4 650 FF
 - Amérique / *North, Central and South America*: 785 \$
- Expédition par voie aérienne incluse / *Including air delivery*
Adresser ordre et paiement à / *address order and payment to*:
Éditions Elsevier : 23, rue Linois, 75724 Paris cedex 15.
- par chèque ou carte de crédit (CB, EuroCard, MasterCard ou Visa) - indiquer le n° et la date d'expiration / *by cheque or credit card (CB, EuroCard, MasterCard or Visa) - indicate No and expiry date*
 - par virement / *by transfer*: CCP Paris n° 30041 00001 1904540 H 020/70.

Les abonnements sont mis en service dans un délai de 4 semaines après réception du paiement. Ils partent du premier numéro de l'année. / *Subscriptions begin 4 weeks after receipt of payment and start with the first issue of the calendar year.* Elsevier assure la diffusion des abonnements et des numéros à compter de 1997. Toute commande ou réclamation portant sur des volumes parus antérieurement doit être adressée au précédent éditeur (Gauthier-Villars). / *The distribution of subscriptions and single issues by Elsevier starts with volume 320, 1997. Orders and claims for volumes published previously should be addressed to the former publisher (Gauthier-Villars).* Les réclamations pour les numéros non reçus doivent nous parvenir dans un délai maximal de 6 mois après la parution. / *Claims for missing issues should be made within 6 months of publication.*

En application de la loi du 1^{er} juillet 1992, il est interdit de reproduire, même partiellement, la présente publication sans l'autorisation de l'éditeur ou du Centre français d'exploitation du droit de copie (20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris).

All rights reserved. No part of this publication may be translated, reproduced, stored in a retrieval system or transmitted in any form or by any other means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without prior permission of the publisher.

Imprimé en France par Stedi,
1, boulevard Ney, 75018 Paris
Dépôt légal : 6010 - A parution
Commission paritaire n° 0502 B 3179
Périodicité : 42 numéros par an

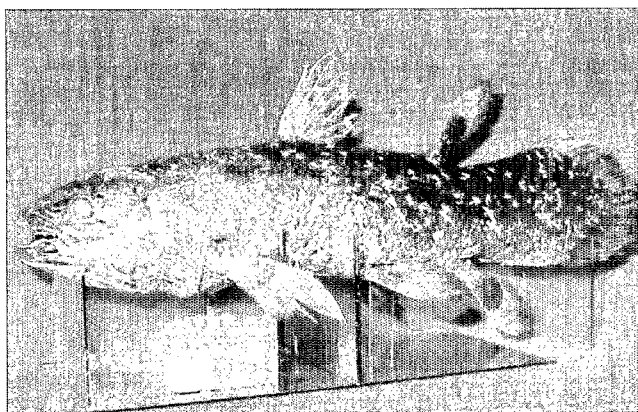
© 1999
Académie des sciences / Elsevier, Paris

Illustration de la couverture :

L'unique spécimen
du coelacanth indonésien
(*Latimeria menadoensis*)
découvert dans l'archipel
de Sulawesi.

*The Indonesian
coelacanth Latimeria
menadoensis discovered
in the archipelago
of Sulawesi.*

Photo : A. Tjakrawidjaja
(voir p. 261)



Une nouvelle espèce de coelacanthe. Preuves génétiques et morphologiques

A new species of coelacanth

Laurent Pouyaud^{a*, b}, Soetikno Wirjoatmodjo^c, Ike Rachmatika^c, Agus Tjakrawidjaja^c, Renny Hadiaty^c, Wartono Hadie^d

^a Institut de recherche pour le développement (IRD-Orstom), Wisma Anugraha, Jalan Taman Kemang 32B, Jakarta 12730, Indonésie

^b Laboratoire génome et population (CNRS), UPR 9060, 34000 Montpellier, France

^c Division of Zoology, Research and Development Center for Biology, Indonesian Institute of Sciences (LIPI), Cibinong, Indonésie

^d Research Institute of Freshwater Fisheries (RIFF), Jakarta, Indonésie

(Reçu le 24 février 1999, accepté le 8 mars 1999)

Abstract – To test the assumption of the existence of a possible new population of coelacanth in Indonesia, we sequenced the mitochondrial DNA from cytochrome *b* and 12S rDNA genes, and described the morphological features of the specimen discovered on July 1998. Significant differences in base sequences revealed that the Comorean and the Indonesian coelacanth belong to distinct populations. Estimation of divergence time, high transition–transversion ratios, preponderance of third position silent substitution, strong morphological differentiation and geographical isolation led us to consider that the Indonesian coelacanth is a new species, *Latimeria menadoensis* n. sp., closely related to *L. chalumnae*. (© Académie des sciences / Elsevier, Paris.)

coelacanth / new species / cytochrome *b* / 12S rDNA / Indonesia

Résumé – L'appartenance à une population distincte de celle des Comores du spécimen de coelacanthe découvert en juillet 1998 en Indonésie a été testée grâce au séquençage de l'ADN mitochondrial (gènes 12S rDNA et cytochrome *b*) et à une étude morphologique. Les différences significatives observées entre les séquences semblent indiquer qu'il existe bien deux populations différentes. L'estimation des temps de divergence, le rapport important entre transition et transversion, la prépondérance des substitutions nucléotiques silencieuses au niveau de la troisième position du codon, l'importance des différences morphologiques et l'isolement géographique nous permettent de dire que le spécimen indonésien appartient à une nouvelle espèce proche de *Latimeria chalumnae*, que nous proposons de nommer *L. menadoensis* n. sp. (© Académie des sciences / Elsevier, Paris.)

coelacanth / nouvelle espèce / cytochrome *b* / 12S rDNA / Indonésie

Abridged version (see p. 266)

Fonds Documentaire ORSTOM



010017447

Note présentée par Claude Combès

* Correspondance et tirés à parts : orstaqua@idola.net.id

Fonds Documentaire ORSTOM
Cote: Bx 17447 Ex: 1

1. Introduction

C'est en 1938 que le premier coelacanthe vivant (*Latimeria chalumnae*) fut capturé au large de la rivière Chalumna sur la côte est de l'Afrique du Sud [1–3]. Cette découverte majeure révélait l'existence d'un « fossile vivant » que l'on croyait disparu depuis environ 70 millions d'années [4–6] et qui avait morphologiquement peu évolué depuis l'apparition au Dévonien, il y a plus de 400 millions d'années [7], des premiers coelacanthidés. Depuis cette première découverte, plus de 200 individus ont été capturés essentiellement à Grand Comores. De nombreuses observations écologiques, couplées avec des analyses génétiques, ont suggéré l'existence d'une population unique composée de quelques centaines d'individus, dont l'habitat se situerait le long de la côte ouest de Grand Comores [8–12].

La découverte en juillet 1998 d'un nouveau spécimen de coelacanthe près de l'île de Menadotua en Indonésie, à plus de 10 000 km des Comores allait immédiatement susciter de nouvelles interrogations [13].

Afin de démontrer l'appartenance possible du coelacanthe indonésien à une population distincte de celle des Comores, nous avons simultanément séquencé deux gènes mitochondriaux (12S rDNA et cytochrome *b*) et effectué la description morphologique de cet individu. Nous proposons de confronter dans cette étude les

séquences obtenues sur le coelacanthe d'Indonésie avec celles publiées sur *L. chalumnae* [14]. Une estimation du temps de divergence entre le coelacanthe d'Indonésie et celui des Comores a été effectuée à partir de la différenciation génétique calculée pour chaque gène.

2. Matériels et méthodes

Huit mesures morphométriques et huit comptages méristiques ont été effectués sur le spécimen capturé dans l'archipel de Sulawesi (Indonésie), et déposé au muséum Bogoriense de zoologie (MZB, Cibinong, Indonésie). Toutes les mesures (exprimées en pourcentage de la longueur standard, LS) ont été effectuées selon le protocole défini par Forey [15]. Lt = longueur de la tête : distance du bout du museau à la limite postérieure de l'opercule ; PD₁/PD₂ = distance prédorsale : du bout du museau à la base de la première ou de la deuxième nageoire dorsale ; H = hauteur du corps ; LPC = longueur du pédoncule caudal ; HPC = hauteur du pédoncule caudal ; LC = longueur de la nageoire caudale ; PPD = distance du museau à la ceinture pelvienne ; D₁/D₂ = nombre de rayons sur la première et la deuxième nageoire dorsale ; *p* = nombre de rayons sur la nageoire pectorale ; V = nombre de rayons sur la nageoire pelvienne ; A = nombre de rayons sur la nageoire annale ; C_d/C_v = nombre de rayons des grands



lobes dorsaux et ventraux de la nageoire caudale ; LCS = nombre de rayons du petit lobe caudal supplémentaire. Les données morphologiques du coelacanthe indonésien ont été comparées à celles obtenues sur cinq spécimens de *L. chalumnae* des Comores [15].

Les analyses génétiques ont été effectuées sur des échantillons de muscle provenant du même individu et stocké dans l'éthanol absolu. L'ADN a été extrait selon un protocole standard utilisant une résine Chelex 100 [16]. Des amorces d'amplification ont été définies de part et d'autre de chacun des gènes à amplifier grâce à la séquence mitochondriale de *Latimeria chalumnae* [14] : (5'-AAGCATAGCACTGAAGATGC-3') et (5'-TATAGCTCAAAATGACCCGC-3') pour le gène 12S rDNA ; (5'-ATCAAACCAACCACGAGTCC-3') et (5'-TCAATCTCCGGCTTACAAGG-3') pour le gène du cytochrome *b*. Le protocole d'amplification de chacun des gènes se compose d'une première étape de dénaturation à 95 °C pendant 60 s, suivie de 35 cycles faisant intervenir trois étapes successives (dénaturation à 91 °C pendant 60 s ; accrochage des amorces à 55 °C pendant 60 s ; élongation et synthèse de l'ADN à 72 °C pendant 150 s). L'amplification s'effectue dans un milieu réactionnel de 50 µL contenant : 5 µL de Tris-HCl 10X, pH 8,3 ; 3 µL MgCl₂ (25 mM) ; 0,5 mM de chaque dNTP ; 3 µL de chaque amorce (10 µM) ; de 10 à 100 ng d'ADN génomique, et trois unités de Taq DNA polymerase Promega®. Les produits d'amplification ont ensuite été purifiés et séquencés selon le protocole Amersham Pharmacia Biotech® (*Thermo Sequenase fluorescent labelled primer cycle sequencing kit with 7-deaza-dGTP*). Les séquences ont été obtenues par migration sur gel de polyacrylamide 6 % sur un séquenceur automatique Amersham Pharmacia Biotech®.

3. Résultats

Nous donnons sur les figures 1 et 2, les alignements respectifs des séquences obtenues sur le coelacanthe d'Indonésie avec les données disponibles sur *L. chalumnae* [14].

3.1. Gène 12S rDNA

Sur un total de 984 bases 28 mutations ponctuelles (27 substitutions et une délétion) ont été mises en évidence entre le coelacanthe originaire d'Indonésie et la séquence de *L. chalumnae*, soit un pourcentage de substitutions nucléotidiques de l'ordre de 2,85 %. Le rapport entre le nombre de transitions (substitution d'une purine par une purine ou d'une pyrimidine par une pyrimidine) et le nombre de transversions (substitution d'une purine par une pyrimidine et inversement) étant de 2,4.

3.2. Gène du cytochrome *b*

Ce gène a été partiellement séquencé, respectivement entre les positions nucléotidiques 14342 et 14732 pour la partie 5' du gène (soit 392 bases) et entre les positions nucléotidiques 15030 et 15482 pour la partie 3' du gène

(soit 453 bases). Sur un total de 845 bases 41 mutations ponctuelles ont été observées entre le coelacanthe d'Indonésie et celui des Comores, soit un pourcentage de substitution nucléotidiques de l'ordre de 4,85 %. Le rapport transition-transversion étant de 13 contre 1.

3.3. Mesures morphométriques

La plupart des mesures effectuée sur le spécimen d'Indonésie montre des différences significatives entre ce dernier et les cinq spécimens étudiés aux Comores. Ainsi, le coelacanthe d'Indonésie est caractérisé par une tête (Lt) plus courte (23 % de la longueur standard versus 24 à 26 % LS), des distances prédorsales (PD₁ et PD₂) plus courtes (respectivement 38 % LS versus 40 % LS pour PD₁ et 60 % LS versus 63 à 65 % LS pour PD₂), une hauteur de corps plus faible (H = 20 % LS versus 27 % LS), un pédoncule caudal plus long (LPC = 31 % LS versus 26 à 28 % LS) et une nageoire caudale plus longue (LC = 16 % LS versus 15 % LS).

3.4. Comptages des rayons des différentes nageoires

Le coelacanthe d'Indonésie se distingue également des cinq spécimens des Comores pour les comptages méristiques. Il se caractérise en effet par un nombre plus faible de rayons à la deuxième nageoire dorsale (D₂ = 27 versus 29 à 31), un nombre plus élevé de rayons pour le grand lobe ventral de la nageoire caudale (C_v = 24 versus 21 à 22) et un nombre plus élevé de rayons pour le petit lobe caudal supplémentaire (LCS = 30 versus 25 à 26).

4. Discussion

La région de contrôle, considérée comme étant la région évoluant le plus rapidement dans l'ADN mitochondrial [17], s'est avérée être presque totalement conservée chez seize individus des Comores et un individu capturé au Mozambique [12]. Un seul spécimen présentait une substitution pour 261 paires de bases. Des résultats analogues ont également été observés par les mêmes auteurs avec des hybridations multilocus de type *finger-print* suggérant une forte consanguinité au sein de la population des Comores, consanguinité du même ordre de grandeur que celle observée au sein de souches de poissons maintenues en laboratoire [18]. Ces résultats ont donc confirmé les nombreuses observations écologiques, témoignant que la population de coelacanthe de Grande Comores devait être une population relictive (aire de répartition étroite, effectifs faibles). Ils suggèrent également que les rares individus capturés en dehors de l'archipel des Comores doivent être considérés comme égarés et originaires de la population des Comores.

Dans ces conditions, la différenciation génétique que nous avons estimé (2,85 % pour le 12S et 4,85 % pour le cytochrome *b*) indique que le spécimen capturé en Indonésie fait partie d'une population distincte de celle des Comores. Les taux importants de transition-transversion

12S rDNA

	1				50
L. Indo.	CAAAGGTTTG	GTCCCAGCCT	TGCTATCAAT	TTTAACCAGG	ATTACACATG
L. Como.	-----	-----	-----	-----	-----
	51				100
L. Indo.	CAAGCATCAA	CTACCCAGTG	AGAATGCCCC	TGACTTATCC	GTCAAAGATA
L. Como.	-----	-C-----	-----	-----	-----
	101				150
L. Indo.	ACAGGGAGCA	GGTATCAGGC	ACACAACA T	AACGCTAGCC	CAAGACACCT
L. Como.	-----T-	-----	-----T-	-----	-----
	151				200
L. Indo.	TGTCCAGCCA	CACCCCAAG	GGAACTCAGC	AGTGATAGAC	ATTGAATAAT
L. Como.	-----	-----	-----	-----	-----
	201				250
L. Indo.	AAGTGA AAC	TTGACTCAAC	CATGGTTACA	AGGGCCGGTC	AACTCCGTGC
L. Como.	-----	-----G-	-----	-----	-----
	251				300
L. Indo.	CAGCCACCGC	GGTTACACGG	AAGACCCAAA	ATGATAACAC	TACCGGCGTA
L. Como.	-----	-----	-----	-----	-----
	301				350
L. Indo.	AAGCGTGATT	AAAGGACACC	CGTCATAATG	GAGCCACAAA	TAACTAAAGC
L. Como.	-----	-----	-AC-----	-----	-----
	351				400
L. Indo.	TGTCATACGC	ACTTAGAAAA	ATAGGCTCAT	CTCACGAAAG	TAGCTCAAGC
L. Como.	---T-----	----A----	---T-----	-A-----	--A---C---
	401				450
L. Indo.	ACCTAAAGGA	CCCCTGAACC	CACGAAAGCT	AAGAAACCAA	CTGGGATTAG
L. Como.	---C-----	A-----	-----	-----A--	-----
	451				500
L. Indo.	ATACCCCACT	ATGCTCAGCC	CTAAACATAA	ACAATTGTAA	CACACACTGT
L. Como.	-----	-----	-----C--	-----A--	-----
	501				550
L. Indo.	TCGCCAGGGG	AACTACAAGC	GCCAGCTTCA	AACCCAAAGG	ACTTGGCGGC
L. Como.	-----	-----	-----	-----	-----
	551				600
L. Indo.	ACTTCAAACC	CACCTAGAGG	AGCCTGTTCT	AGAACTGATA	ACCCCCACCT
L. Como.	-----	-----	-----	-A-----C-	-----
	601				650
L. Indo.	AACCTCACCA	TCCCTAGCCA	TTAAACCAGC	CTATATATCG	CCGTCGCCAG
L. Como.	-----	-----	-----	-----C--	-----
	651				700
L. Indo.	CCCACCCTGT	GAAGGGAATA	TAATGGGCAA	AAATAAAAAA	ATTAAAAACG
L. Como.	-----	-----A----	C-----	-----	-----
	701				750
L. Indo.	TCAGGTCGAG	GTGTAGCAAA	TGGGATGGGA	AGAAATGGGC	TACATTTTCT
L. Como.	-----	-----	---A-----	-----	-----
	751				800
L. Indo.	AAATATAGAA	TATTACGAAA	AAATACAGCG	AAACCCGTAC	TTCGAAGGAG
L. Como.	-----	-----	-----	-----T----	--T-----
	801				850
L. Indo.	GATTTAGCAG	TAAAAGGGGA	ATAGAGAGCC	CCTCTGAAAC	CGGCCCTGAA
L. Como.	-----	-----	-----	-----	-----
	851				900
L. Indo.	ATGTGCACAC	ACCGCCCGTC	ACTCTCCTCA	CCCAAATCG	GCCCCATCTT
L. Como.	---C-----	-----	-----	-----	-----
	901				950
L. Indo.	TTTATAAACA	AATAAACCAA	GCATACAAGT	AGAGGAGGCA	AGTCGTAACA
L. Como.	--A-----	-----	-----	-----	-----
	951			984	
L. Indo.	AGGTAAGTGT	ACCGGAAGGT	GCACTTGGAT	TAAT	
L. Como.	-----	-----	-----C	-----	

Figure 1. Séquences nucléotidiques du gène 12S rDNA pour le coelacanthé d'Indonésie (L. Indo.) et pour le coelacanthé des Comores (L. Como.). Les tirets indiquent l'identité nucléotidique de L. Como. par rapport à la séquence supérieure. Lors de chaque mutation ponctuelle, la base nucléotidique substituée est symbolisée par une lettre sur la séquence alignée inférieure. Les délétions nucléotidiques sont signalées par un ou plusieurs points selon le nombre de bases délétées.

Cytochrome b position 14342 à 14732

	1				50
L. Indo.	CAATGACAAA	CATCCGAAAG	ACACACCCAC	TAATTAAAAT	CATTAACGAA
L. Como.	-C-----	-----	-----G-	-----	T-C-----
	51				100
L. Indo.	ACCGTCATTG	ACCTCCCCAC	ACCATCAAAC	ATCTCAATCT	GATGAAATTT
L. Como.	---A---C-	-----	-----	-----	-----
	101				150
L. Indo.	TGGGTCACTG	CTAGGAATTT	GCTTAATTAT	ACAAATCGTA	ACAGGCCTAT
L. Como.	-----A	-----	-T-----C	-----	-----
	151				200
L. Indo.	TCTTAGCAAT	GCACTACACA	GCTGACATCA	CAACAGCATT	CTCATCAGTA
L. Como.	-----	A-----	-----T-	-----	-----
	201				250
L. Indo.	GCCCACATCT	GCCGAGATGT	AAACTATGGA	TGACTAATCC	GAAACACCCA
L. Como.	-----	-----	-----	-----	---GT-----
	251				300
L. Indo.	TGCCAACGGA	GCCTCTCTAT	TCTTCATCTG	CATCTACCTA	CATGTAGCAC
L. Como.	-----	-----	-----	-----	-----
	301				350
L. Indo.	GTGGACTCTA	TTATGGATCA	TATTTACAAA	AAGAACCCTG	AAACATTGGA
L. Como.	-----	C-----G--	--C-----	-----A-----	-----C---
	351				392
L. Indo.	GTTATCCTCC	TCATGCTAGT	TATGATTACC	GCCTTCGTGG	GG
L. Como.	-----	-----	-----T	-----	-A

Cytochrome b position 15030 à 15482

	1				50
L. Indo.	TTAGGATTCC	TAATCACACT	AACAACACTA	GCATTCCTAG	CCCTATTCCAC
L. Como.	-----	---T-----	-----	-----A	-----
	51				100
L. Indo.	CCCAAACCTG	CTAGGAGACC	CAGAAAACCTT	CACACCAGCA	AACCCACTAA
L. Como.	T-----	T-----	-C-----	-----	-----T---
	101				150
L. Indo.	CCACCCACC	ACACATCAAA	CCAGAATGAT	ACTTCCTATT	TGCCTATGCA
L. Como.	-----G--	-----	-----	-----	C-----
	151				200
L. Indo.	ATTCTACGAT	CCATCCCCAA	CAAACCTAGGA	GGAGTCCTAG	CTCTAGTCTT
L. Como.	-----	-----	-----	-----T---	-----C
	201				250
L. Indo.	CTCCATTCTA	GTACTACTAC	TAGTGCCAAC	CTTACACACC	TCAAAAACAAC
L. Como.	---T-----	-----	-----T	-----	-----
	251				300
L. Indo.	GAGGAAACAT	CTTCCGCCCA	ATCACCCAAG	CACTATTCTG	AGCCCTTGTA
L. Como.	-----C	-----	--T-----A	T-----	-----
	301				350
L. Indo.	GCAGACATGC	TAATCCTAAC	CTGAATCGGA	GGCCAACCGG	TAGAGTATCC
L. Como.	-----	-----	-----	-----A-	---A-----
	351				400
L. Indo.	ATTTCATGACA	ATCGGGCAAA	TTGCTTCAAT	CACCTACTTC	AGCCTATTCC
L. Como.	-----	---A-----	-----	-----	-----
	401				453
L. Indo.	TCATCCTAAT	CCCAATAACT	GGATGGCTGG	AAAACAAGGC	CATAAACTGA AAC
L. Como.	-----	-----	-----A--A-	-----	-----

Figure 2. Séquences nucléotidiques de deux portions du gène du cytochrome *b* pour le coelacanthe d'Indonésie (L. Indo.) et pour le coelacanthe des Comores (L. Como.).

Ces deux régions du gène correspondent respectivement aux position nucléotidiques 14342 à 14732 et 15030 à 15482 sur la séquence mitochondriale complète publiée par Zardoya et Meyer (1997). La nomenclature utilisée est la même que sur la figure précédente.

observés, ainsi que la dominance des substitutions nucléotidiques sur la troisième position du codon (76 %), indiquent des niveaux de divergence entre ces deux populations du même ordre de grandeur que ceux généralement observés entre des espèces proches ou des populations éloignées d'une même espèce [19].

Le spécimen indonésien a été capturé sur les pentes d'une île volcanique géologiquement récente et caractérisée par un réseau complexe d'anfractuosités [13]. Cet habitat est semblable à celui décrit aux Comores [20], confirmant ainsi l'apparente préférence de ce poisson pour ce type de milieu [11]. L'isolement génétique mis en évidence dans cette étude, semble pouvoir s'expliquer par un isolement géographique. En effet, l'Indonésie et les Comores sont éloignées de plus de 10 000 km, séparées par d'importantes fosses abyssales parcourues de courants marins antagonistes [21].

Grâce aux horloges moléculaires disponibles pour ces deux gènes [22–24] nous pouvons donner une estimation du temps de divergence entre les deux populations de coelacanth (1 % de substitution nucléotidique par million d'années pour le gène 12S rDNA ; 2 % de substitution nucléotidique par million d'années pour le gène du cytochrome *b*). En considérant ces taux qui sont parmi les plus faibles, nous estimons un temps de divergence des deux populations avec leur ancêtre commun de

l'ordre de 1 420 000 années pour le gène 12S rDNA et 1 220 000 années pour le gène du cytochrome *b*. Il est intéressant de constater que, malgré les contraintes sélectives différentes qui s'exercent sur ces deux gènes, les temps de divergence estimés entre ces deux populations sont relativement semblables. Si l'on se réfère à l'histoire évolutive des coelacanthidés, qui remontent à plus de 400 millions d'années, l'événement qui a conduit à l'isolement de ces deux populations de *Latimeria* est relativement récent.

Le cumul de toutes ces observations (différentiation génétique et morphologique, isolement géographique et même existence de profils de coloration distincts [13], semblent montrer que l'individu capturé dans l'archipel indonésien appartient à une nouvelle espèce que nous proposons de nommer *Latimeria menadoensis* n. sp., en référence à la localité de capture du spécimen.

L'aire de répartition de cette nouvelle espèce semble ne pas être limitée au nord de l'île de Sulawesi. En effet, des enquêtes récentes semblent indiquer que des coelacanth ont été observés sur d'autres îles de l'archipel indonésien. Ce résultat très important demande à être confirmé par l'observation de nouveaux spécimens. Nul doute que ce poisson extraordinaire nous réservera encore beaucoup de surprises.

Abridged version

On July 1998, the arrival of a lost relative was registered for the celebration of the Diamond Jubilee of the coelacanth *Latimeria chalumnae* Smith. This discovery of an Indonesian population of coelacanth, almost 10 000 km from the known population in the Comoros immediately raised new taxonomic, biogeographic and conservation implications.

To test the assumption of the existence of a possible new population, we sequenced the mitochondrial DNA from cytochrome *b* and 12S rDNA genes, and described morphological features of the Indonesian specimen. Our data were then compared with those available from specimens of the Comorean population.

Percentage differences in base sequences are 4.85 % for the 845 base pairs of the partial cytochrome *b* gene (transition–transversion 13 :1) and 2.85 % for the 984 base pairs of the total 12S rDNA gene (transition–transversion 2.4 :1).

Previous molecular analysis conducted both from the most evolving part of the control region and multilocus DNA fingerprints of 16 individuals of the Comoros and one of Mozambique revealed a low genetic variability comparable to that observed on consanguine stocks of laboratory fish. It enforced ecological observations arguing that the breeding stock at Grand Comoro has a very narrow habitat range with a small relict population. These results strongly suggest that the Comorean and the Indonesian coelacanth belong to distinct populations. Nevertheless, the high transition–transversion ratios and the preponderance of third position silent

substitutions (76 %) observed is typical for comparisons between closely related species or between populations within species.

Morphometrical comparison carried out between both populations showed strong differentiation. Sixty-three per cent of the measurements assessed on the Indonesian specimen are excluded from the range of corresponding values described on five individuals of *L. chalumnae*. The Indonesian specimen is characterised by a shorter head length (23 % SL versus 24–26 % SL); shorter predorsal length (38 % SL versus 40 % SL for PD₁; 60 % SL versus 63–65 % SL for PD₂); a slender body depth (20 % SL versus 27 % SL); a caudal peduncle longer (31 % SL versus 26–28 % SL); a longer caudal fin (16 % SL versus 15 % SL). Concerning meristic counts, the Indonesian coelacanth is characterised by a greater number of rays on the second dorsal fin (27 versus 29–31), on the ventral caudal lobe (24 versus 21–22) and on the supplementary caudal lobe (30 versus 25–26).

Many parameters, such as the genetic and morphological differentiation, the evidence of geographical isolation from the vast distance between cryptic populations, the dynamics of the current distribution coupled with the discontinuity of the habitat and the existence of a distinct coloration pattern, lead us to consider that the Indonesian coelacanth is a new species. We propose to name this species *Latimeria menadoensis*, referring to its sampling location. Nevertheless, we must keep in mind that this species is closely related to *L. chalumnae*. Referring to an abundant literature concerning approximate molecular clock/evolutionary time calibrations,

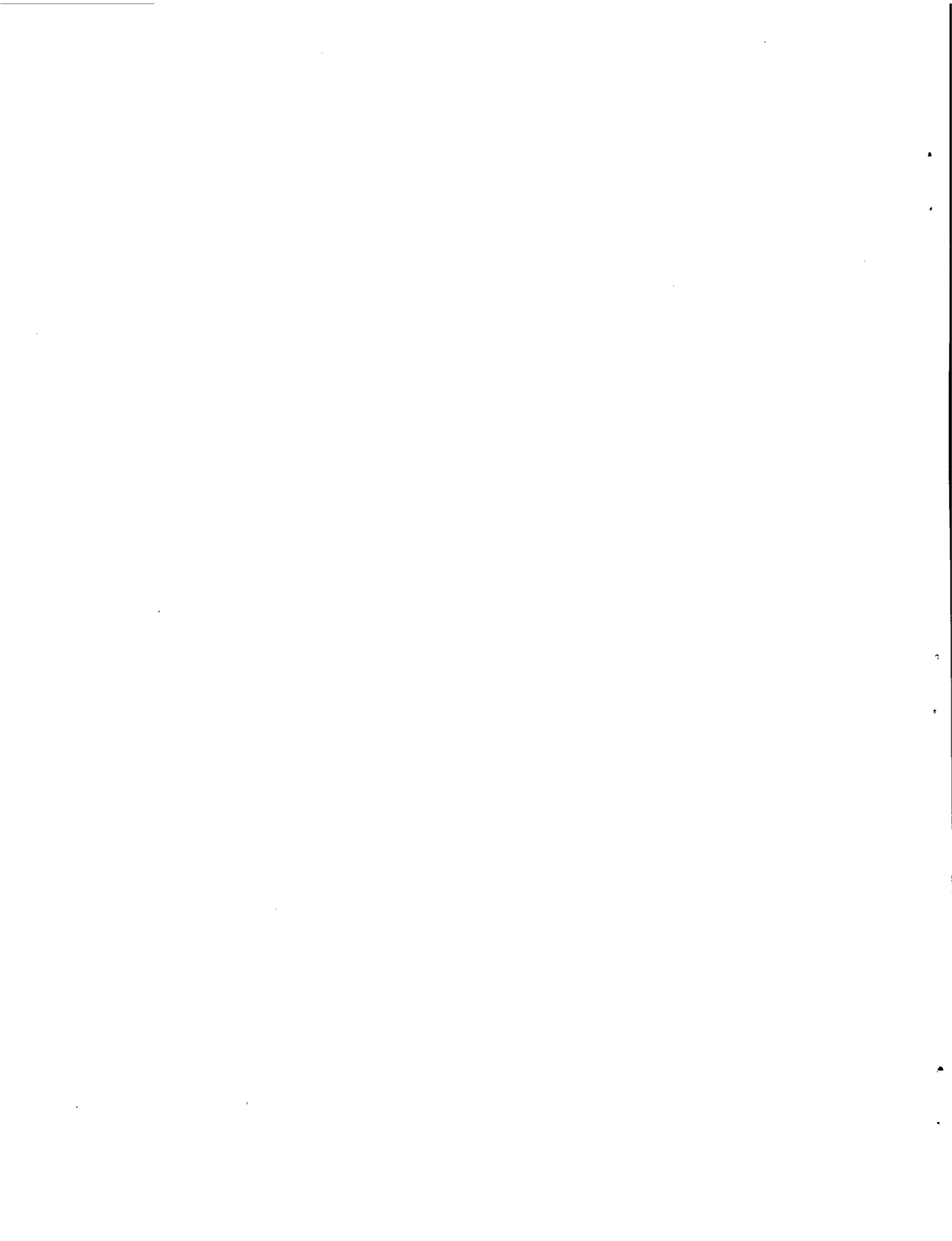
we are able to give an estimation of the time divergence between the two populations of coelacanth. Two different rates of sequence divergence were used for the 12S rDNA (1 % of nucleotidic substitution per million years) and for the cytochrome *b* (2 % of nucleotidic substitution per million years). According to these rates, we estimate a divergence

time from their common ancestor around 1 220 000 years with cytochrome *b* and around 1 420 000 years with 12S rDNA. With regards the long history of coelacanth this range of divergence time makes it a recent event, and there is no doubt that this fascinating fish will continue to give us new surprising information.

Remerciements : Les auteurs tiennent à remercier C. Combes, A. Pariselle, D. Aurelle, M. Legendre, J.-F. Renno, J. Slembrouck, C. Tsigenopoulos et P. Levang représentant de l'IRD (ex-Orstom) en Indonésie pour son soutien financier.

Références

- [1] Smith J.L.B., A living fish of mesozoic type, *Nature* 143 (1939) 455–456.
- [2] Smith J.L.B., *Old Fourlegs: The Story of the Coelacanth*, Longmans, Londres, 1956.
- [3] Courtenay-Latimer M., My story of the first coelacanth, *Occas. Pap. Calif. Acad. Sci.* 134 (1979) 6–10.
- [4] Huxley T.H., Preliminary essay upon the systematic arrangement of the fishes of the Devonian epoch. Figures and descriptions illustrative of British organic remains, *Mem. Geol. Surv. UK Dec.* 10 (1861) 1–40.
- [5] Woodward A.S., *Catalogue of Fossil Fishes in the British Museum (Natural History)*, British Museum (Natural History), Londres, 1891.
- [6] Stensiö E.A., *Triassic Fishes from Spitzbergen*, Holzhausen, Vienne, 1921.
- [7] Forey P.L., *Latimeria chalumnae* and its pedigree, *Environ. Biol. Fishes* 32 (1991) 75–97.
- [8] Fricke H., Hissmann K., Schauer J., Reinicke O., Kasang L., Plante R., Habitat and population size of the coelacanth *Latimeria chalumnae* at Grand Comoro, *Environ. Biol. Fish.* 32 (1991) 287–300.
- [9] Fricke H., Living coelacanths: values, eco-ethics and human responsibility, *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 161 (1997) 1–15.
- [10] Fricke H., Hissmann K., Schauer J., Plante R., Yet more danger for coelacanths, *Nature* 374 (1995) 314.
- [11] Plante R., Fricke H., Hissmann K., Coelacanth population, conservation and fishery activity at Grande Comore, West Indian Ocean, *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 166 (1998) 231–236.
- [12] Schliewen U., Fricke H., Scharl M., Epplen J.T., Pääbo S., Which home for coelacanth?, *Nature* 363 (1993) 405.
- [13] Erdmann M.V., Caldwell R.L., Moosa M.K., Indonesian 'King of the sea' discovered, *Nature* 395 (1998) 335.
- [14] Zardoya R., Meyer A., The complete DNA sequence of the mitochondrial genome of a 'living fossil', the Coelacanth (*Latimeria chalumnae*), *Genetics* 146 (1997) 995–1010.
- [15] Forey P.L., *History of the Coelacanth Fishes*, Chapman & Hall, Londres, 1998, 365 p.
- [16] Walsh P.S., Metzger D.A., Higushi R., Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material, *Biotechniques* 10 (1991) 506–513.
- [17] Lee W.J., Conroy J., Hunting Howell W., Kocher T.D., Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions, *J. Mol. Evol.* 41 (1995) 54–66.
- [18] Nanda I., Scharl M., Feichtinger W., Epplen J.T., Schmid M., Early stages of sex chromosome differentiation in fish as analysed by simple repetitive DNA sequences, *Chromosoma* 101 (1992) 301–310.
- [19] Orti G., Bell M.A., Reimchen T.E., Meyer A., Global survey of mitochondrial DNA sequence in the threespine stickleback: Evidence for recent migrations, *Evolution* 48 (1994) 608–622.
- [20] Bruton M.N., Cabral A.J.P., Fricke H., First capture of a coelacanth, *Latimeria chalumnae* (Pisces, Latimeriidae), off Mozambique, *S. Afr. J. Sci.* 88 (1992) 225–227.
- [21] Forey P.L., A home from home for coelacanths, *Nature* 395 (1998) 336.
- [22] Bermingham E., McCafferty S.S., Martin A.P., Fish biogeography and molecular clocks: Perspectives from the Panamanian Isthmus, in : Kocher T.D., Stepien C.A. (éd.), *Molecular Systematic of Fishes*, Academic Press, San Diego, 1997.
- [23] Stepien C.A., Dillon A.K., Brooks M.J., Chase K.L., Hubers A.N., The evolution of blennioid fishes based on an analysis of mitochondrial 12S rDNA, in : Kocher T.D., Stepien C.A. (éd.), *Molecular Systematic of Fishes*, Academic Press, San Diego, 1997.
- [24] Sturmbauer C., Meyer A., Genetic divergence speciation and morphological stasis in a lineage of African cichlid fishes, *Nature* 359 (1992) 578–581.





● **Biologie et pathologie végétales / *Plant biology and pathology***

- 303 Plant production via shoot regeneration from thin cell layer pseudo-bulblet explants of *Lilium longiflorum* in vitro
Régénération de bourgeons et production des plantes à partir de couches cellulaires minces de pseudo-bulbes de Lilium longiflorum
Bui Van Le, Duong Tân Nhut, K. Tran Thanh Van

● **Immunologie / *Immunology***

- 311 Detection of nitrosylated epitopes in *Trypanosoma brucei gambiense* by polyclonal and monoclonal anti-conjugated-NO-cysteine antibodies
Détection des épitopes nitrosylés dans les Trypanosoma brucei gambiense par des anticorps polyclonaux et monoclonaux anti-NO-cystéine conjuguée
Sanié Mnaimneh, Michel Geffard, Bernard Veyret, Philippe Vincendeau

● **Pharmacologie, toxicologie / *Pharmacology, toxicology***

- 323 Effets hypotensifs de l'extrait au méthanol de *Bidens pilosa* Linn chez les rats hypertendus
Hypotensive effects of a methanol extract from Bidens pilosa Linn on the hypertensive rats
Théophile Dimo, Téléphore Benoît Nguélefack, Pierre Kamtchouing, Étienne Dongo, Alice Rakotonirina, Silvère V. Rakotonirina

● **Écologie / *Ecology***

- 331 Changes in roach (*Rutilus rutilus* L.) population structure induced on draining a large reservoir
Changements induits par la vidange d'un grand réservoir sur la structure d'une population de gardons (Rutilus rutilus L.)
Sandrine Angélibert, Sébastien Brosse, Francis Dauba, Sovan Lek
- 339 Variabilité spécifique à l'intérieur des groupes fonctionnels. Étude du remaniement sédimentaire de deux bivalves Veneridae, *Ruditapes decussatus* et *Venerupis aurea*
Specific variability within functional groups. Study of the sediment reworking of two Veneridae bivalves, Ruditapes decussatus and Venerupis aurea
Frédérique François, Kariner Dalègre, Franck Gilbert, Georges Stora

La liste des rubriques du journal est la suivante / *The list of headings is the following:*

Note historique (*Historical note*) / Débats (*Debate*) / Revue (*Review*) / Hypothèses et modélisation (*Hypotheses and modelization*) / Point sur (*Concise review*) / Biologie et génétique moléculaires (*Molecular biology and genetics*) / Génétique (*Genetics*) / Biologie du développement et de la reproduction (*Development and reproduction biology*) / Biologie cellulaire (*Cell biology*) / Biochimie (*Biochemistry*) / Neurosciences (*Neurosciences*) / Physiologie (*Physiology*) / Biologie et pathologie animales (*Animal biology and pathology*) / Biologie et pathologie végétales (*Plant biology and pathology*) / Immunologie (*Immunology*) / Microbiologie : bactériologie, mycologie, parasitologie, virologie (*Microbiology: bacteriology, mycology, parasitology, virology*) / Pharmacologie, toxicologie (*Pharmacology, toxicology*) / Sciences médicales (*Medical sciences*) / Biophysique (*Biophysics*) / Biologie des populations (*Populations biology*) / Épidémiologie (*Epidemiology*) / Écologie (*Ecology*) / Évolution (*Evolution*) / Taxinomie (*Taxonomy*) / Agronomie (*Agronomy*) / Anthropologie (*Anthropology*)



○ **Éditorial / Editorial**

- 257 Coelacanthes. Métapopulation ou clade ?
Coelacanth. Metapopulation or clade?
Claude Combes

○ **Évolution / Evolution**

- 261 Une nouvelle espèce de coelacanthe. Preuves génétiques et morphologiques
A new species of coelacanth
Laurent Pouyaud, Soetikno Wirjoatmodjo, Ike Rachmatika, Agus Tjakrawidjaja,
Renny Hadiaty, Wartono Hadie

○ **Débats / Debate**

- 269 Culture et recherche scientifique. Un binôme à sauvegarder
Culture and scientific research. A binomial to preserve
Edgardo D. Carosella

○ **Neurosciences / Neurosciences**

- 271 Spectral acoustic structure of barking in roe deer (*Capreolus capreolus*).
Sex-, age- and individual-related variations
Structure acoustique spectrale de l'aboiement chez le chevreuil (Capreolus capreolus).
Influence du sexe, de l'âge et différences inter-individuelles
David Reby, Bruno Cargnelutti, Jean Joachim, Stéphane Aulagnier

○ **Physiologie / Physiology**

(Développement et validation d'un modèle mécanique de la tête humaine.
Voir tome 326, série IIb, 1999, 125–131)

○ **Biologie et pathologie animales / Animal biology and pathology**

- 281 Le parasitisme des poissons coralliens. Reflet de l'habitat ?
The parasitism of coral reef fish. Reflection of habitat?
Cédrik M. Lo, Serge Morand, René Galzin

○ **Biologie du développement / Development biology**

- 289 The patterning function of purines in the brine shrimp *Artemia*
The rôle des purines dans la morphogénèse d'Artemia
Arantxa Hernandorena