

7^e Colloque National BRG –
STRASBOURG

LES RESSOURCES GÉNÉTIQUES
À L'HEURE DES GÉNOMES

*CHARACTERISING GENETIC RESOURCES
IN THE GENOMIC ERA*

Les Actes du



n°7

Comité de lecture (*Editorial board*)

Sigrid AUBERT, Amadou BA, Philippe BARET, Julien BERTHAUD, Philippe BERTIN, Christian BIEMONT, Elisabeth BLESBOIS, François BONHOMME, Pierre BOUDRY, Pierre CAPY, Serge CASAREGOLA, André CHARRIER, Eléonore CHARVOLIN, Yuna CHIFFOLEAU, Jean-Marie CORNUET, Grégory DECHAMP-GUILLAUME, Johann DETILLEUX, Christine DILLMAN, Françoise FRIDLANSKY, Gustavo GANDINI, Sylvain GLÉMIN, Françoise GREHAND, Eugénie HEBRARD, Sophie HUBERT, Louise JOUANIN, Frédéric LANTIER, Frédérique LE ROUX, Marc-Henry LEBRUN, François LEFÈVRE, Nathalie MACHON, Thierry NOËL, Jean-Louis PHAM, Daniel PRAT, Edwige QUILLET, Pierre-Yves RESCAN, Juliette RIQUET, Sylvain SANTONI, Pierre SAUMITOU-LAPRADE, Jean-Luc SOUCIET, Hélène TORDJAMN, Michel TROMMETTER, Étienne VERRIER.

Comité éditorial (*Editorial secretary*)

Eléonore CHARVOLIN, Françoise FRIDLANSKY, Frédérique MARIE et Armelle SAÏHI.

Mise en page

Frédérique MARIE.

Remerciements

Les travaux ont été réalisés avec le soutien des ministères en charge de la Recherche, de l'Agriculture et de l'Écologie et du Développement Durable, de l'INRA, de l'IRD et du Cirad.

Le colloque a bénéficié du concours financier de la Mairie et Communauté Urbaine de Strasbourg, de l'Université Louis Pasteur-Strasbourg I, d'Alsace BioValley, de l'INRA de Colmar, de la Région Alsace, du Conseil Général du Bas-Rhin, de l'INRA [Direction « Plante et Produits du Végétal », Départements de Génétique animale, de Microbiologie, de Génétique et Amélioration des Plantes], du Cirad, de l'IRD, du Ministère de l'Écologie et du Développement Durable.

Nous remercions également l'Université Louis Pasteur à Strasbourg pour son accueil et son organisation.

Enfin, un grand merci à Françoise FRIDLANSKY pour son aide précieuse.

SOMMAIRE

Introduction.....	9
I – Restitution de l'appel à propositions.....	13
Test de la performance des gènes en copie unique pour obtenir des phylogénies robustes : exemple en utilisant les génomes complets de champignons <i>Gabriela Aguilera, Sylvain Marthey, Hélène Chiapello, Marc-Henri Lebrun, François Rodolphe, Elisabeth Fournier, Annie Gendrault-Jacquemard, Tatiana Giraud.....</i>	15
Modélisation multi-agents des réseaux d'échanges de semences pour la conservation de la biodiversité agricole <i>Didier Bazile, Géraldine Abrami, Souleymane Dembele, Harouna Coulibaly, Christophe Le Page, Mathieu Dionnet, Jacques Chantereau, Céline Boué, Mattea Orsini, François Bousquet, Jean-Louis Pham, Kadiatou Sangare, Gilles Bezançon</i>	29
Analyse comparative du polymorphisme des gènes <i>eIF4E</i> chez les plantes : conservation <i>versus</i> sélection positive exercée par les virus <i>Carole Caranta, Jacques David, Carine Charron, Stéphane De Mita, Pascale Sanchez, Sylvain Santoni, Alberto Cenci, Joëlle Ronfort, Audrey Weber, Anne-Françoise Adam-Blondon, Dominique Brunel, Nathalie Chantret</i>	51
Diversité et évolution d'une famille multigénique impliquée dans la biosynthèse de l'amidon chez les graminées, et cas particulier de la domestication du maïs <i>Jonathan Corbi, Marilyne Debien, Agnès Rousselet, Martine Le Guilloux, Jean-Louis Prioul, Catherine Damerval, Maud Tenailon, Domenica Manicacci</i>	65
Diversité et évolution des déshalogénases bactériennes : détection bioinformatique et perspectives de recherche <i>Maude David, Françoise Bringel, Marco Pagni, Niamb Gilmartin, Hasna Boubakri, Thierry Nadalig, Pascal Simonet, Timothy Vogel, Stéphane Vuilleumier</i>	83
Étude de QTL liés à la trypanotolérance bovine dans une population métisse ouest-africaine par analyse d'association <i>Guignighaza Kossigan Dayo, Sophie Thevenon, Jean-Paul Poivey, Issa Sidibe, Zakaria Bengaly, André Eggen, Didier Boichard, Mathieu Gauthier</i>	95
Étude des complémentarités entre gestion dynamique à la ferme et gestion statique en collection : cas de la variété de blé Rouge de Bordeaux <i>Elise Demeulenaere, Christophe Bonneuil, François Balfourier, Alain Basson, Jean-François Berthelot, Vincent Chesneau, Henri Ferté, Nathalie Galic, Guy Kastler, Jean Koenig, Florent Mercier, Joël Payement, Alain Pommart, Bernard Ronot, Yves Rousselle, Nicolas Supiot, Hélène Zabaria, Isabelle Goldringer</i>	117

Diversité agricole et patrimoine dans le moyen Rio Negro (Amazonie brésilienne)	
<i>Laure Emperaire, Pascale de Robert, Juliana Santilli, Ludvine Eloy, Lúcia van Velthem, Esther Katz, Cláudia Lopez, Anne-Elisabeth Laques, Manuela Carneiro Da Cunha, Mauro Almeida</i>	139
Détection par EcoTILLING du polymorphisme nucléotidique de gènes de résistance chez le peuplier	
<i>Patricia Faivre-Rampant, Aloïs Bresson, Isabella Paolucci, Erwan Cailleux, Marion Dalmais, Florence PIRON, Arnaud Dowkin, Vanina Guerin, Abdelhafid Bendhamane, Catherine Bastien, Véronique Jorge</i>	155
Apports du séquençage multiloci à la phylogénie et à la taxonomie de deux genres majeurs de bactéries phytopathogènes : <i>Pseudomonas</i> et <i>Xanthomonas</i>	
<i>Marion Fischer-Le Saux, Olivier Pruvost, Emilie Fargier, Nathalie Ab-You, Sophie Bonneau, Carolina Gonzalez, Lionel Gagnevin, Valérie Verdier, Charles Manceau</i>	171
Diversité nucléotidique pour le gène <i>PHANTASTICA</i> (<i>PHAN</i>) le long d'un gradient altitudinal chez le frêne commun (<i>Fraxinus excelsior</i> L.) et chez le frêne oxyphylle (<i>Fraxinus angustifolia</i> Valh)	
<i>Nathalie Frascaria-Lacoste, Juan Fernandez-Manjarres, Joly Basak, Pierre Gérard, Paola Bertolino, Jean Dufour, Corinne Cruaud, Arnaud Couloux, Sophie Massot</i>	187
Analyse et exploitation de la diversité génétique des polykétides synthases de type I dans l'ADN metagénomique d'un sol	
<i>Aurélien Ginolbac, Sandrine Demaneche, Cyrille Jarrin, Patrick Robe, Fabrice Lefèvre, Renaud Nalin, Guy Perrière, Timothy M. Vogel, Pascal Simonet</i>	201
Un modèle de variabilité fonctionnelle chez les arbres forestiers : le gène <i>CCR</i> d'eucalyptus	
<i>Jean-Marc Gion, Frédéric Mortier, Eric Mandrou, Paulo Ricardo Hein Gherardi, Tristan Costecalde, Gilles Chaix, Marie Étienne, Pierre Sivadon, Jacqueline Grima-Pettenati, Emilie Villar, Aubin Saya, Brigitte Pollet, Catherine Lapierre, Philippe Vigneron</i>	215
Analyse du polymorphisme des α 1,2fucosyltransférases chez le lapin de garenne et recherche d'une relation avec la sensibilité à la maladie hémorragique virale	
<i>Patrice Guillon, Nathalie Ruvoën-Clouet, Béatrice Le Moullac-Vaidye, Stéphane Marchandean, Jacques Le Pendu</i>	239
Polymorphisme de gènes impliqués dans l'acquisition et la gestion de l'énergie chez l'huître creuse <i>Crassostrea gigas</i> : relations avec des caractères d'intérêt aquacole	
<i>Arnaud Huvet, Dario Moraga, Elise David, Anne-Leila Meistertzheim, Arnaud Tanguy, Alain Van Wormboudt, Jeanne Moal, Fanny Jeffroy, Christopher Sawage, Sylvie Lapègue, Pierre Boudry</i>	253

Spécialisation de la tique des oiseaux marins et diversité des bactéries du complexe <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> , agents de la maladie de Lyme: effets en cascade dans les systèmes à vecteur <i>Karen D. McCoy, David Duneau, Thierry Boulmier</i>	277
Tragédie des anti-communautaires et gestion collective dans les biotechnologies <i>Yann Ménière, Michel Trommetter, Henry Feyt, Catherine Potvin</i>	293
Analyse de séquences multi-loci (MLSA) dans le genre <i>Bradyrhizobium</i> <i>Angèle N'Zoué, Gisèle Laguerre, Farida Boulila, Chinna Swamy Appunu, Nourredine Sebbane, Raoul Rivas, Anne Willems, Lionel Moulin, Philippe de Lajudie</i>	319
Caractérisation de populations à partir de l'analyse de régions chromosomiques potentiellement sélectionnées en comparaison à la diversité neutre : étude conjointe de lignées expérimentales de poules et des quatre sous-populations ovines de race Lacaune <i>Isabelle Palhière, Valérie Loynnyck, Magali Sancristobal, Denis Laloé, Yves Amigues, Bertrand Bed'hom, Bernard Bibé, Pieter Bijma, Loys Bodin, Daïa Boudarene, Claude Chevalet, Sophie Leroux, Katayoun Moazami-Goudarzi, Philippe Mulsant, Frédérique Pitel, Bertrand Servin, Etienne Verrier, Florence Vignoles</i>	335
Démassage des gènes spécifiques d'une espèce génomique du complexe <i>Agrobacterium tumefaciens</i> par AFLP et multicapteur à ADN <i>Perrine Portier, Denis Costechareyre, Daniel Muller, David Chapulliot, Christine Oger, Guy Perrière, Laurent Guéguen, Vincent Daubin, Xavier Nesme</i>	351
Identification des gènes candidats de la tolérance au zinc chez la pseudométallophyte <i>Arabidopsis halleri</i> par l'intégration des données de génomique comparative et de transcriptomique disponibles chez <i>Arabidopsis</i> <i>Nancy Roosens, Zaigham Shahzad, Eric Lacombe, Hélène Frérot, Anne Creach, Pierre Berthomieu, Pierre Saumitou-Laprade</i>	373
La Cryobanque Nationale Lapin : un outil de gestion dynamique des ressources génétiques cynicoles <i>Pascal Salvetti, Daniel Allain, Gérard Bolet, Jacques Hurtaud, Samuel Boucher, Thierry Joly</i>	391
Déperdition ancienne et restauration moderne de la diversité génétique du blé <i>Anne-Céline Thuillet, Pierre Roumet, Amandine Bordat, Christine Tollon, Gérard Poux, Sylvain Santoni, Jacques David</i>	405
Interactions génomiques en régime de sélection et taille de population <i>Michel Veuille, Lionel Brazier, Florent Meli</i>	423

Contribution des éléments transposables à la création de diversité et à l'adaptation du maïs - une étude pilote <i>Tatiana Zerjal, Christine Dillmann, Alain Charcosset, Karine Alix, Corinne Mhiri, Marie-Angèle Grandbastien, Maud Tenaillon</i>	439
II – Communication en séances plénières.....	457
Le séquençage du génome de la vigne dans un projet public franco-italien <i>A-F Adam-Blondon</i>	459
Diversité et homogénéité génétique de l'espèce canine : potentiel en génétique médicale <i>Catherine André, Christophe Hitte</i>	463
Analyse fonctionnelle de micro-organismes et de communautés complexes par des approches (méta)protéomiques <i>Florence Arsène-Ploetz, Florence Goulben-Chollet, Bertrand Chaumande, Stéphanie Weiss, Christine Carapito, Jessica Cleiss, Sébastien Gallien, Christine Schaeffer, Alain Van Dorselaer, Philippe N Bertin</i>	469
Multiplicité des facteurs conduisant à un choix de conservation <i>François Boulineau</i>	475
Qui était LUCA? Portrait du Last Universal Common Ancestor <i>Céline Brochier</i>	477
Le mildiou de la vigne : diversité génétique, introductions et durabilité des résistances <i>François Delmotte, Pere Mestre</i>	485
La gestion des informations relatives aux races à petits effectifs par les systèmes nationaux d'information génétique (SNIG) : contribution et problèmes rencontrés <i>C. Dos, C. Danchin-Burge</i>	487
Siregal, un système d'information multi-espèces sur les ressources génétiques végétales françaises <i>Sophie Durand</i>	495
Modèles économiques de la valeur d'une ressource génétique <i>A.Fadlaoui, P. Baret,</i>	499
La connaissance du processus de domestication nous éclaire t-elle sur les choix de conservation ? <i>Paul Gepts</i>	501

Mesure et impact de la stratification génétique intra et inter races chez le chien <i>Christophe Hitte, Catherine André</i>	503
La place des projets territoriaux dans les prises de décision sur le devenir des races animales locales <i>Adeline Lambert-Derkimba, François Casabianca, Etienne Verrier</i>	509
Caractérisation et utilisation de la diversité génétique de la vigne <i>L. Le Cunff, M. Di Vecchi Staraz, R. Bacilieri, S. Nicolas, V. Laucon, T. Lacombe, A. Doligez, A-F Adam-Blondon, J-M Boursiquot, P. This</i>	517
Métagénomique et diversité génétique et métabolique <i>Denis Le Paslier</i>	519
Whole genome sequencing of the fungal plant pathogens <i>Botrytis cinerea</i> and <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> <i>Marc-Henri Lebrun</i>	521
Diversité moléculaire et structure du génome chez les levures <i>S. cerevisiae</i> œnologiques <i>JL Legras, B. Blondin, S. Casaregola, S. Dequin</i>	523
Une information hors norme : les savoirs traditionnels <i>Anne Luxereau</i>	525
Génomique et évolution des Actinobactéries <i>Normand P, Alloisio N, Pujic P, Vallenet D, Medigue C, Berry A, Santos C, Tavares F, Daubin V</i>	527
De la collecte de données à l'information pour les décideurs : la production d'indicateurs de biodiversité <i>Dominique Richard, Eléonore Charvolin</i>	529
La mesure de la diversité génétique : quels outils, quelles méthodes, quel futurs ? <i>Joëlle Ronfort</i>	531
Nouveaux outils moléculaires pour décrire la biodiversité <i>Pierre Taberlet</i>	533
Les développements technologiques dans l'analyse des génomes <i>Patrick Wincker</i>	535

CONTENTS

Introduction.....	9
I –.....	13
Assessing the performance of single-copy orthologs for recovering robust fungal phylogenies <i>Gabriela Aguilera, Sylvain Marthey, Hélène Chiapello, Marc-Henri Lebrun, François Rodolphe, Elisabeth Fournier, Annie Gendrault-Jacquemard, Tatiana Giraud.....</i>	15
Modelling the seed system with agent-based models <i>Didier Bazile, Géraldine Abrami, Souleymane Dembele, Harouna Coulibaly, Christophe Le Page, Mathieu Dionnet, Jacques Chantereau, Céline Boué, Mattea Orsini, François Bousquet, Jean-Louis Pham, Kadiatou Sangare, Gilles Bezançon</i>	29
Comparative analysis of the DNA polymorphism at <i>eIF4E</i> genes in plants: conservation <i>versus</i> positive selection exerted by Potyviruses <i>Carole Caranta, Jacques David, Carine Charron, Stéphane De Mita, Pascale Sanchez, Sylvain Santoni, Alberto Cenci, Joëlle Ronfort, Audrey Weber, Anne-Françoise Adam-Blondon, Dominique Brunel, Nathalie Chantret</i>	51
Diversity and evolution of a multigenic family involved in starch biosynthesis in grasses, and the case of maize domestication <i>Jonathan Corbi, Marilyne Debieu, Agnès Rousselet, Martine Le Guilloux, Jean-Louis Prioul, Catherine Damerval, Maud Tenailon, Domenica Manicacci</i>	65
Diversity and evolution of bacterial dehalogenases: Detection by bioinformatic tools and research perspectives <i>Maude David, Françoise Bringel, Marco Pagni, Niamb Gilmartin, Hasna Boubakri, Thierry Nadalig, Pascal Simonet, Timothy Vogel, Stéphane Vuilleumier</i>	83
QTL linked to bovine trypanotolerance in West African crossbred population <i>Guignighaza Kossigan Dayo, Sophie Thevenon, Jean-Paul Poivey, Issa Sidibe, Zakaria Bengaly, André Eggen, Didier Boichard, Mathieu Gauthier</i>	95
Complementary aspects of dynamic management on farm and static conservation in genebank based on a case study: the wheat variety 'Rouge de Bordeaux' <i>Elise Demeulenaere, Christophe Bonneuil, François Balfourier, Alain Basson, Jean-François Berthelot, Vincent Chesneau, Henri Ferté, Nathalie Galic, Guy Kastler, Jean Koenig, Florent Mercier, Joël Payement, Alain Pommart, Bernard Ronot, Yves Rousselle, Nicolas Supiot, Hélène Zabaria, Isabelle Goldringer</i>	117

Agriculture diversity and heritage in the mid-Rio Negro region (Brazilian Amazon)	
<i>Laure Emperaire, Pascale de Robert, Juliana Santilli, Ludvine Eloy, Lúcia van Velthem, Esther Katz, Cláudia Lopez, Anne-Elisabeth Laques, Manuela Carneiro Da Cunha, Mauro Almeida</i>	139
EcoTILLING for identification of allelic variation in poplar resistance genes	
<i>Patricia Faivre-Rampant, Aloïs Bresson, Isabella Paolucci, Erwan Cailloux, Marion Dalmais, Florence PIRON, Arnaud Dowkim, Vanina Guerin, Abdelhafid Bendhamane, Catherine Bastien, Véronique Jorge</i>	155
Contribution of Multilocus sequence analysis to the phylogeny and taxonomy of two major groups of plant pathogenic bacteria : <i>Xanthomonas</i> and <i>Pseudomonas</i>	
<i>Marion Fischer-Le Saux, Olivier Pruvost, Emilie Fargier, Nathalie Ab-You, Sophie Bonneau, Carolina Gonzalez, Lionel Gagnevin, Valérie Verdier, Charles Manceau</i>	171
Nucleotide diversity at the <i>PHANTASTICA</i> gene (<i>PHAN</i>) along an altitudinal gradient for common ash (<i>Fraxinus excelsior</i> L.) and narrow-leaved ash (<i>Fraxinus angustifolia</i> Valh.)	
<i>Nathalie Frascaria-Lacoste, Juan Fernandez-Manjarres, Jolly Basak, Pierre Gérard, Paola Bertolino, Jean Dufour, Corinne Cruaud, Arnaud Couloux, Sophie Massot</i>	187
Analysis and exploitation of type I polyketide synthase genetic diversity in soil metagenomic DNA	
<i>Aurélien Ginolbac, Sandrine Demaneche, Cyrille Jarrin, Patrick Robe, Fabrice Lefèvre, Renaud Nalin, Guy Perrière, Timothy M. Vogel, Pascal Simonet</i>	201
CCR gene in <i>Eucalyptus</i> : a model of functional variability in forest trees	
<i>Jean-Marc Gion, Frédéric Mortier, Eric Mandrou, Paulo Ricardo Hein Gherardi, Tristan Costecalde, Gilles Chaix, Marie Étienne, Pierre Sivadon, Jacqueline Grima-Pettenati, Emilie Villar, Aubin Saya, Brigitte Pollet, Catherine Lapierre, Philippe Vigneron</i>	215
Analysis of wild rabbit α 1,2fucosyltransferases polymorphism and search of a relationship with sensitivity to viral hemorrhagic disease	
<i>Patrice Guillon, Nathalie Ruvoën-Clouet, Béatrice Le Moullac-Vaidye, Stéphane Marchandeanu, Jacques Le Pendu</i>	239
Polymorphism of nutrition and energy metabolism related-genes in the cupped oyster <i>Crassostrea gigas</i> : implication in important traits for aquaculture	
<i>Arnaud Huvet, Dario Moraga, Elise David, Anne-Leila Meistertzheim, Arnaud Tanguy, Alain Van Wormboudt, Jeanne Moal, Fanny Jeffroy, Christopher Sauvage, Sylvie Lapègue, Pierre Boudry</i>	253
Specialisation of the seabird tick and diversity of Lyme borreliosis bacteria: cascading host effects in vector-borne systems	
<i>Karen D. McCoy, David Duneau, Thierry Boulmier</i>	277

The tragedy of anticommons and collective mangement in plant biotechnology <i>Yann Ménière, Michel Trommetter, Henry Feyt, Catherine Potvin</i>	293
Multilocus sequence analysis in <i>Bradyrhizobium</i> <i>Angèle N'Zoué, Gisèle Laguerre, Farida Boulila, Chinmaswamy Appunu, Nourredine Sebbane, Raoul Rivas, Anne Willems, Lionel Moulin, Philippe de Lajudie</i>	319
Characterization of populations by detecting genomic regions supposed to be under selection, compared to the neutral diversity: example of chicken experimental lines and the four breeding populations in Lacaune sheep breed <i>Isabelle Palbière, Valérie Løynyck, Magali Sancristobal, Denis Laloé, Yves Amigues, Bertrand Bed'hom, Bernard Bibé, Piter Bijma, Loys Bodin, Daïa Boudarene, Claude Chevalet, Sophie Leroux, Katayoun Moazami-Goudarzi, Philippe Mulsant, Frédérique Pitel, Bertrand Servin, Etienne Verrier, Florence Vignoles</i>	335
Unmasking species specific genes in <i>Agrobacterium tumefaciens</i> species G8 by AFLP and microarray <i>Perrine Portier, Denis Costechareyre, Daniel Muller, David Chapulliot, Christine Oger, Guy Perrière, Laurent Guéguen, Vincent Daubin, Xavier Nesme</i>	351
Genetic Zn tolerance in <i>Arabidopsis thaliana</i> <i>Nancy Roosens, Zaigham Shahzad, Eric Lacombe, Hélène Frérot, Anne Creach, Pierre Berthomieu, Pierre Saumitou-Laprade</i>	373
The French Rabbit Cryobank: a tool for management of rabbit genetic resources <i>Pascal Salvetti, Daniel Allain, Gérard Bolet, Jacques Hurtaud, Samuel Boucher, Thierry Joly</i> ..	391
Loss and restoration of wheat genetic diversity <i>Anne-Céline Thuillet, Pierre Roumet, Amandine Bordat, Christine Tollon, Gérard Poux, Sylvain Santoni, Jacques David</i>	405
Genomic interactions under selection regime <i>Michel Veuille, Lionel Brazier, Florent Meli</i>	423
How did transposable elements contribute to maize diversity and adaptation? – a pilot study <i>Tatiana Zerjal, Christine Dillmann, Alain Charcosset, Karine Alix, Corinne Mhiri, Marie-Angèle Grandbastien, Maud Tenaillon</i>	439

Spécialisation de la tique des oiseaux marins et diversité des bactéries du complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato*, agents de la maladie de Lyme: effets en cascade dans les systèmes à vecteur

Karen D. MCCOY^{(1)*}, David DUNEAU^(1,2), Thierry BOULINIER⁽³⁾

⁽¹⁾Génétique et Evolution des Maladies Infectieuses, UMR 2724 CNRS-IRD, Centre IRD, 911 Avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier

⁽²⁾Zoologisches Institut, Evolutionsbiologie, Universität Basel, Vesalgasse 1, CH-4051 Basel, Switzerland

⁽³⁾Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, CNRS - UMR 5175, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier

Abstract: Specialisation of the seabird tick and diversity of Lyme borreliosis bacteria: cascading host effects in vector-borne systems. The role of vectors in micropathogen evolution is often neglected. However, vector specialisation for a given host type can result in the isolation of pathogen populations (*via* cascading effects) and can subsequently affect pathogen genetic variation with major consequences for the co-evolutionary process and the epidemiology of associated disease. We investigated the implications of vector specialisation by examining the diversity and population structure of bacteria of the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex found in the marine cycle of Lyme borreliosis, involving different seabird species and their specialist tick *Ixodes uriae* as vector. The analysis of a conserved bacterial gene (flagellin gene *FlaB*) revealed the presence of three species of the complex in the tick vector: *B. garinii*, *B. lusitaniae* and *B. burgdorferi sensu stricto*. This is the first record of *B. lusitaniae* and *B. burgdorferi s.s.* in the marine system. The bacterium was present in all colonies examined in relatively high prevalence (population average $26.0\% \pm 3.9\%$) confirming that this microparasite is endemic to the marine system. In agreement with predictions, our results show an isolation of *Borrelia* isolates by tick host race. Nevertheless, these patterns differ among seabird colonies with only three of the four examined colonies showing clear patterns of divergence. The combination of variable degrees of isolation due to specialisation of the tick vector and the effect of distance among seabird colonies seems to create a complex landscape for the evolution of these bacteria. More detailed molecular studies involving both the pathogen and the vector should help us evaluate different hypotheses that might explain these patterns. These data can also be used to infer the potential interaction between marine and terrestrial endemic cycles of borreliosis.

* Correspondance et tirés à part : mccoym@mpl.ird.fr

animal population/ biological adaptation/ genetic differentiation/ genetic epidemiology / disease vectors

Résumé : Le rôle des vecteurs dans l'évolution des micropathogènes est souvent négligé. Néanmoins, la spécialisation du vecteur pour un type d'hôte peut entraîner un isolement entre populations du microparasite (effet en cascade) et pourrait donc affecter la variation génétique de celui-ci avec des conséquences majeures sur les processus de coévolution et l'épidémiologie des maladies associées. Nous avons testé cette hypothèse en examinant la diversité et la structure des bactéries dans le cycle marin de la borréliose de Lyme, impliquant des oiseaux et leurs tiques spécialistes, *Ixodes uriae*. L'analyse d'un gène conservé codant pour une protéine de la flagelline (*FlaB*) a révélé la présence de trois espèces du complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato* chez *I. uriae* : *B. garinii*, *B. lusitaniae* et *B. burgdorferi sensu stricto*. Une forte prévalence globale a aussi été trouvée (26 %), suggérant que ces microparasites sont endémiques au système. Conformément aux prédictions, nos résultats sont cohérents avec un isolement relatif de la borréliose en fonction des races d'hôte de tiques. Néanmoins, le degré de divergence diffère selon les colonies d'oiseaux. La combinaison de l'isolement variable dû aux vecteurs et de la distance génère donc un contexte évolutif complexe pour ce système. Des études moléculaires plus détaillées, à la fois sur l'organisme pathogène et sur le vecteur, nous aideront à tester différentes hypothèses qui pourraient expliquer ces patterns.

population animale/ adaptation biologique/ différenciation génétique/ génétique épidémiologique/ vecteurs de maladie**1. INTRODUCTION**

L'évolution de la diversité parasitaire est une cause majeure de dégâts économiques et médicaux chez les humains et les êtres vivants domestiqués dont ils dépendent. Une compréhension de la répartition de cette variabilité et des facteurs qui l'affectent est essentielle pour le contrôle de ces organismes pathogènes (par exemple, l'identification de variants pour la vaccination, etc.). Dans les systèmes à vecteur il est parfois avancé que seule l'interaction du microparasite avec son hôte vertébré détermine la direction de l'évolution et la pathogénicité du microparasite (*e.g.*, [25], [3]). Néanmoins, une telle supposition n'est jamais vérifiée et s'avère même particulièrement inadéquate dans les cas où le vecteur impose des contraintes importantes sur la dynamique du micropathogène (*e.g.*, [1]). En effet, la spécialisation du vecteur pour un type d'hôte peut entraîner un isolement entre populations du microparasite (effet en cascade) et pourrait donc affecter la variation génétique de cet organisme avec des conséquences majeures sur les possibilités d'adaptation du microparasite à ses hôtes et réciproquement [9], [28].

Afin d'étudier le rôle de la spécialisation d'un vecteur sur l'évolution d'un microparasite, nous avons examiné un système impliquant des races spécia-

lisées de la tique d'oiseaux marins, *Ixodes uriae*, et un groupe de microparasites transmis par cette tique, les bactéries du complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato* (Bbsl), agents étiologiques de la maladie de Lyme chez l'homme. Ces bactéries sont relativement bien caractérisées dans leur cycle terrestre (impliquant surtout des mammifères et les tiques du complexe *Ixodes ricinus*), mais les informations sur le cycle marin sont quasi-inexistantes [20]. Nos travaux précédents sur *I. uriae* ont révélé une spécialisation d'*I. uriae* pour différentes espèces d'oiseaux [15], [17]. Cette étude a donc visé à caractériser la diversité des borrelies au sein du cycle marin et à examiner comment cette diversité est affectée par la présence de races d'hôtes de la tique. Si la spécialisation des tiques vectrices est une contrainte importante pour la transmission du microparasite, on s'attend à une structuration de la prévalence et de la variation génétique du microparasite entre races de vecteurs et à différentes échelles spatiales.

2. MÉTHODES

2.1. Espèces concernées

La tique *Ixodes uriae* exploite des oiseaux marins coloniaux des régions circumpolaires. Dans chaque hémisphère, les populations de ces oiseaux sont fortement subdivisées à plusieurs échelles spatiales et forment souvent des groupes hétérospécifiques dans les zones de reproduction; il y a donc la possibilité de plusieurs types d'interactions avec des parasites, au sein et entre espèces hôtes. Les principaux hôtes oiseaux infestés par *I. uriae* partagent plusieurs similarités car ils sont tous coloniaux, longévifs et pélagiques (passent l'hiver en mer) et ont tendance à être fortement fidèles à leur site de reproduction. Cependant, le comportement varie entre ces espèces. Par exemple, elles se dispersent à différentes échelles spatiales, utilisent différents types de sites de nidification au sein des colonies, et ont des stratégies différentes de fourragement en pleine mer. Ces différences peuvent avoir un impact sur l'évolution des populations de tiques associées à ces hôtes. En effet, avec une approche de génétique des populations, nous avons mis en évidence une différenciation de cet ectoparasite entre espèces hôtes sympatriques de l'hémisphère Nord [15]. Nous avons également caractérisé l'effet de cette spécialisation présumée sur la structuration spatiale des populations de la tique [16]. Nous avons utilisé le «répliquat» naturel de ce système dans l'hémisphère Sud pour confirmer que la formation des races d'hôtes était bien un processus évolutif récurrent chez cette tique [17].

Il a été découvert en 1993 que les oiseaux marins hébergent les bactéries du complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato* (Bbsl) et que la tique *I. uriae* en est le

vecteur [20]. Il existe à présent 13 espèces reconnues de ce complexe, dont au moins quatre sont pathogènes chez l'homme et responsables de la maladie de Lyme (*B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, *B. spielmanii* et *B. afzelii*), qui est la maladie à vecteur la plus importante en zone tempérée [24]. Les effets pathogènes de ces bactéries diffèrent suivant l'espèce de *Borrelia*, mais aussi suivant l'individu hôte infecté; il y a donc une forte interaction entre le génotype du microparasite et celui de l'hôte [26]. Les conséquences de l'infection pour les oiseaux ne sont pas connues. À présent, *B. garinii* est la seule espèce décrite dans le cycle marin, mais le nombre d'études est limité pour l'instant. De la même manière, on n'a pas encore assez d'informations pour savoir s'il existe une liaison avec le cycle terrestre de la borréliose. Par ailleurs, les implications des vecteurs spécialistes pour la transmission n'ont jamais été évaluées.

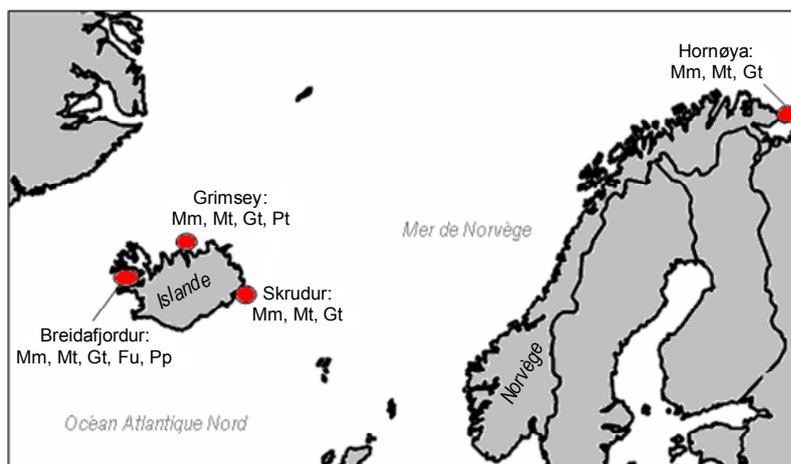


Figure 1. Localisation des colonies hétérospecifics d'oiseaux marins où la tique *Ixodes uriae* a été échantillonnée. Les espèces d'oiseaux sur lesquelles les tiques ont été récoltées sont indiquées (Mm: macareux moine, Mt: mouette tridactyle, Gt: guillemot de Troil, Fu: fulmar, Pt: pingouin torda)

Dans le cadre de notre étude, nous avons sélectionné quatre sites où nous avons pu prélever des tiques sur au moins trois espèces hôtes oiseaux nichant en sympatrie (fig. 1). L'échantillonnage a été fait sur une colonie dans le nord de la Norvège (île d'Hornøya) et sur trois colonies d'Islande (l'île de Skrudur, l'île de Grimsey et à Breidafjordur). Les oiseaux échantillonnés appartiennent à cinq espèces : la mouette tridactyle (*Rissa tridactyla*), le macareux moine (*Fratercula arctica*), le pingouin Torda (*Alca torda*), le guillemot de Troil (*Uria aalge*) et le fulmar (*Fulmarus glacialis*). Nous avons essayé de prélever environ 30 tiques pour chaque espèce d'oiseau par

site lorsque l'espèce considérée était infestée. Dans la mesure du possible, les tiques ont été collectées sur des individus différents ; il s'agit majoritairement d'adultes femelles, plus rarement de nymphes.

2.2. Analyses génétiques

L'extraction de l'ADN total de la tique et des micropathogènes associés a été effectuée à l'aide du kit DNeasy Tissue (Qiagen, Valencia, CA) à partir d'un broyat de tique contenant le tube digestif et les glandes salivaires. Pour déterminer si une tique est infectée par une borrelie ou non, nous avons employé un protocole de PCR nichée pour amplifier le gène de la flagelline (*FlaB*), qui est un gène de ménage fortement conservé au sein du complexe Bbsl. [14], [5]. Ce gène code pour une protéine du flagelle de la bactérie. Les régions marginales de ce gène sont très conservées par rapport aux régions plus médianes qui sont plus polymorphes. Cela en fait un marqueur moléculaire idéal pour la détection de la présence/absence de la bactérie et pour l'évaluation de la diversité génétique. La PCR nichée (avec deux étapes d'amplification et deux séries d'amorces, les deuxièmes étant nichées dans la séquence de la première amplification) nous a permis d'amplifier un fragment de 390 pb de la région polymorphe du gène considéré [5].

Le mélange PCR utilisé était: 2,5µl de tampon (10x), 2µl de MgCl₂ (25mM), 2µl de dNTP (2,5mM), 0,5µl d'amorces (20µM), 1 unité de Taq polymérase (Promega), 20 ng d'ADN, eau qsp 25µl. Le programme PCR était : dénaturation initiale à 95 °C 1 minute, puis 35 cycles de 94 °C 30 secondes, 52 °C 40 secondes, et 72 °C 1 minute, et une étape d'élongation finale de 72 °C 5 minutes. Le mélange PCR a été le même pour les deux PCRs successives, sauf pour la deuxième dans laquelle 0,5µl du produit de la première PCR a été utilisé comme matrice d'amplification et où des conditions PCR plus sévères ont été utilisées (température d'annealing à 55 °C). Pour chaque PCR, nous avons utilisé un contrôle négatif (eau) et un contrôle positif, une borrelie provenant de culture et fournie par le Centre de Référence des Spirochètes de l'Institut Pasteur de Paris (la souche POTib2 de *B. lusitaniae* et la souche 20047 de *B. garinii*). L'infection a été révélée par la présence d'une bande de 300 à 400 pb sur un gel d'agarose (2 %). Ces produits PCR ont été ensuite séquencés (Genome Express, Meylan).

Nous avons ensuite effectué une analyse phylogénétique des souches de borrelie de notre échantillonnage avec des espèces reconnues de LB. Les séquences de référence, correspondantes aux différentes espèces du complexe *Borrelia burgdorferi* s.l. reconnues, ont été obtenues à partir de Genbank. Les séquences ont été alignées à l'aide du logiciel SEAVIEW [10]. Un arbre phylogénétique du gène *FlaB* a été ensuite construit par la méthode de

maximum de vraisemblance (PAUP 4.0b10: [29]) après sélection d'un modèle de substitution des nucléotides par le programme MODELTEST 3.6 [22]. La robustesse des nœuds a été testée par une analyse de bootstrap (1000 répétitions) [29] et l'arbre final a été dessiné par le programme TREEDYN [4].

2.3. Analyses statistiques

Afin de tester la prédiction que la spécialisation des tiques pour différentes espèces d'oiseaux conduirait à des prévalences différentes, des tests exacts de Fisher ont été effectués au sein de chaque colonie mixte, en utilisant le programme STRUC [23]. Ce test nous a permis de voir si certaines races de tiques sont plus infectées que d'autres au sein de chaque site. La procédure de Fisher a été employée pour combiner des tests indépendants effectués dans chaque colonie [23]. De même, nos colonies échantillonnées étant séparées par des distances géographiques plus ou moins grandes, nous avons voulu tester si la prévalence de la borrélie variait selon les colonies étudiées, en fonction de l'éloignement. Nous avons donc fait également des tests exacts de Fisher pour savoir si, pour chaque race de tique, la prévalence était différente d'un site à l'autre. Certaines espèces n'ayant pas pu être échantillonnées dans tous les sites (fig. 1), cette dernière analyse a été faite uniquement pour les tiques de la mouette tridactyle, du macareux moine et du guillemot de Troil. Nous avons aussi effectué un test global non paramétrique (test de Kruskal-Wallis), sur la variabilité de la prévalence entre colonies incluant les données des trois races hôtes.

La comparaison des prévalences n'est pas le test le plus puissant pour tester une divergence potentielle des borréliés entre populations hôtes, car le taux d'infection des tiques peut se révéler similaire même si la composition génétique des borréliés est variable entre populations de tiques. Afin de déterminer si la divergence entre séquences de borréliés est liée à un isolement des populations, des analyses de variance moléculaire (AMOVA) ont été effectuées à l'aide du logiciel ARLEQUIN 3.01 [27]. L'analyse a été faite dans un premier temps à partir de populations établies sur la base des races d'hôtes de tique pour chaque site. Ceci nous permet d'estimer la part de variance moléculaire expliquée par l'isolement lié à la spécialisation des tiques. Dans un deuxième temps, l'analyse a été faite pour chaque race échantillonnée dans toutes les colonies pour tester le rôle potentiel de l'espace dans la divergence des borréliés. Ces analyses ont été faites uniquement sur des séquences de *B. garinii*, car il n'y avait pas un nombre de séquences suffisant pour les autres espèces pour effectuer ce genre d'analyse. Nous ne pouvons pas inclure toutes les espèces dans une même AMOVA car l'inclusion d'espèces différentes au sein d'une même population peut masquer les divergences entre population.

3. RÉSULTATS

Parmi les 402 tiques testées pour la borrélie, 109 ont été positives en *Borrelia* par PCR (soit une prévalence globale moyenne de 26,0% ± 3,9). Une étude de répétabilité de détection de la borrélie par cette méthode a suggéré que cette valeur sous-estime la vraie prévalence d'infection chez ces tiques [18], notre estimation de prévalence est donc conservatrice. Parmi les positifs, nous avons obtenu les séquences de 97 isolats, avec 31 séquences différentes et onze cas de co-infections par des borrélioses (tabl.I). Seules les séquences contenant une seule souche ont pu être utilisées pour les analyses de structuration (soit 86 séquences).

Tableau I : Prévalence et répartition des isolats de *Borrelia burgdorferi* s.l (Bl = *B. lusitaniae*; Bg = *B. garinii*). Le nombre de tiques infectées avec plusieurs souches de *Borrelia* spp. est indiqué dans la colonne 'Co-inf'. Voir la figure 1 pour la localisation des colonies.

Colonie	Hôte (No. Échantillonnés)	No. Tiques (A=adultes, N=nymphe)	Prévalence de <i>Borrelia</i>		Espèces**		
			No. tiques positives (No. hôtes)*	Moyen	Bl	Bg	Co-inf
Hornøya (Norvège)	Mouette (21)	29(26A, 3N)	2 (2)			1	
	Macareux (27)	30(9A, 25N)	7(7)			5	
	Guillemot (29)	30(28A, 2N)	7(7)			4	
			Total: 16	18,0 %			
Skrudur (Islande)	Mouette (17)	28(25A, 3N)	5(5)		2	2	1
	Macareux (19)	31(26A, 5N)	7(4)			7	
	Guillemot (27)	32(32A)	6(6)		2	4	
			Total: 18	19,8 %			
Grimsey (Islande)	Mouette (24)	30(16A, 14N)	10(10)		2	5	3
	Macareux (28)	39(29A, 10N)	13(11)		2	11	
	Guillemot (23)	30(25A, 5N)	10(10)		3	5	2
	Pingouin (12)	17(1A, 16N)	0				
			Total: 33	28,4 %			
Breidafjörður (Islande)	Mouette (11)	20(2A, 18N)	9(8)		2	6	1
	Macareux (25)	30(14A, 16N)	19(16)			13	2
	Guillemot (7)	12(12A)	3(3)			1	1
	Pingouin (9)	14(12A, 2N)	2(2)			2	
	Fulmar (16)	30(11A, 19N)	9(9)			6	1
			Total: 42	39,6 %			

* No. hôtes = nombre d'individus hôtes échantillonnés avec au moins une tique infectée.

** des séquences complètes n'ont pas été obtenues pour 12 tiques positives. Un isolat de *B. burgdorferi sensu stricto* a été trouvé chez une tique de guillemot sur Hornøya

Après alignement, les séquences de 311 pb ont été utilisées pour l'analyse phylogénétique. Dans cette région, il y avait 63 sites variables, dont 21 sites informatifs. Pour éviter l'attribution de trop de poids pour un événement de mutation, les séquences trouvées plusieurs fois n'ont été incluses qu'une seule fois dans l'arbre (fig. 2). La comparaison des séquences obtenues aux séquences de références des borrélioses connues a suggéré la présence d'au moins trois espèces de *Borrelia burgdorferi* s.l. au sein du système marin : *B.*

garinii (84 % des positifs), *B. lusitaniae* (15 % des positifs), et *B. burgdorferi sensu stricto* (1 % des positifs) [7].

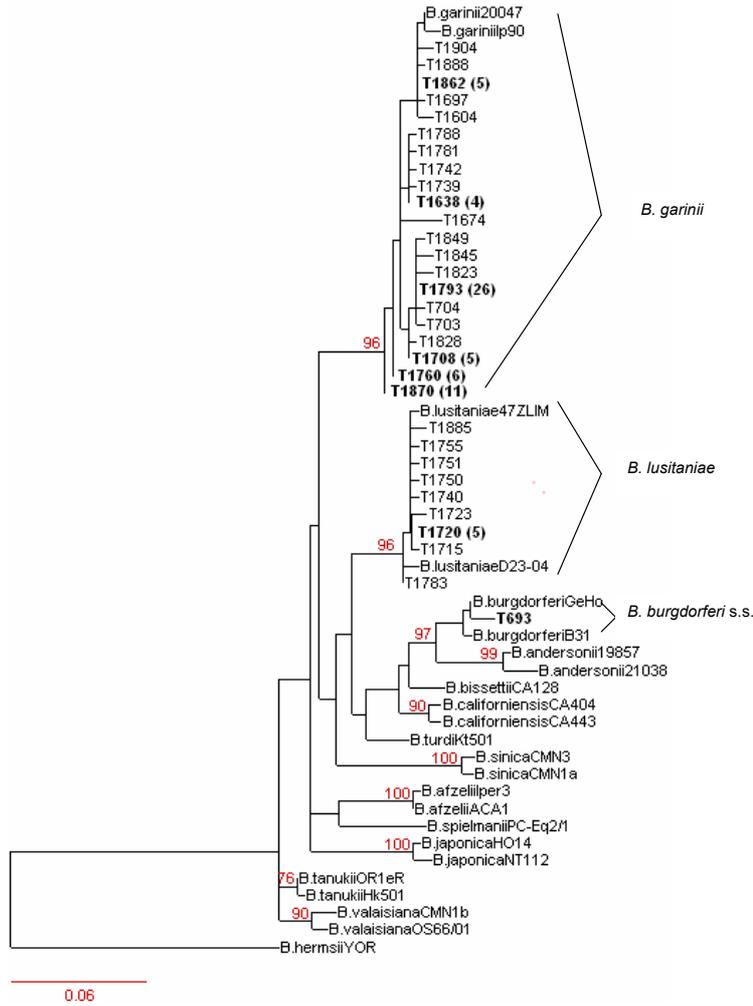


Figure 2 : Arbre phylogénétique du gène de la flagelline des borrelies obtenu par la méthode de maximum de vraisemblance. Les séquences de référence ont été obtenues à partir de Genbank et correspondent aux différentes espèces du complexe *Borrelia burgdorferi s.l.* actuellement reconnues (voir Duneau *et al.* sous presse). Plusieurs séquences identiques ont été trouvées dans les populations testées, leur nombre est indiqué entre parenthèses dans l'arbre. La robustesse des noeuds est testée par une analyse de bootstrap (1 000 répétitions) et seules les valeurs supérieures à 75% sont représentées. Figure d'après Duneau *et al.* (sous presse).

3.1. Prévalence des borrélioses

Pour détecter une différence de prévalence entre les races de tiques sympatriques, nous avons effectué des tests individuels pour chaque colonie. Sur Hornøya, malgré une tendance pour les tiques de mouettes à être moins infectées, il n'y avait pas de différence significative de prévalence en borréliose entre races de tiques (Test exact de Fisher, $p = 0,18$, tabl. I). Il n'y avait également pas de différence significative entre les trois systèmes d'hôtes sur Skrudur (Test exact de Fisher, $p=0,895$). Pour Breidafjordur, une différence de prévalence significative entre des tiques infectées chez les guillemots, mouettes, macareux, fulmars et pingouins a été trouvée (Test exact de Fisher, $p = 0,011$). Une différence de prévalence entre les tiques des quatre races d'hôtes a été aussi trouvée sur Grimsey (Test exact de Fisher, $p = 0,019$). Quand les résultats de ces différents tests sont combinés, la prévalence globale varie significativement entre races au sein des colonies (Procédure de Fisher, $p = 0,0081$). Ces résultats pourraient être largement expliqués par un faible taux d'infection des tiques de pingouins par rapport aux autres races (tabl. I). En effet, si on retire les échantillons de cette race de tique, il n'y a plus de différences de prévalence au sein des colonies. Il semble donc que la prévalence de la borréliose soit relativement homogène entre races de tique pour les quatre sites étudiés.

Pour tester l'influence de la distance géographique, nous avons comparé la prévalence entre sites pour les tiques de guillemots, mouettes et macareux. Globalement, la prévalence varie significativement entre colonies (test de Kruskal-Wallis, $p = 0,001$). Néanmoins, les résultats sont variables pour chaque race (tabl. I). Pour les tiques de guillemots, il n'y avait pas de différence de prévalence de la bactérie entre les sites (Test de Fisher, $p = 0,63$). En revanche, une différence est observée pour les hôtes mouettes et macareux (Test de Fisher, respectivement, $p = 0,0084$; $p = 0,0025$).

3.2. Structuration des borrélioses

Comme le résume le tableau II, on observe un fort effet de l'isolement des souches de *B. garinii* par race de tiques dans toutes les colonies sauf Skrudur. Les espèces d'oiseaux sont donc associées avec une part significative de la variance moléculaire des souches de borréliose (Procédure de Fisher, $p = 0,0003$).

Tableau II : Description de la structuration de *B. garinii* entre races d'*Ixodes uriae* au sein de chaque site hétérosécificique obtenue à partir d'une analyse de variance moléculaire (AMOVA). La différenciation entre populations est estimée par Φ_{ST} . Les chiffres en gras sont significatifs.

Colonie	N	Est. Φ_{ST}	Valeur de P
Skrudur	13	0,01	0,440
Hornøya	10	0,32	0,037
Breidafjordur	28	0,14	0,030
Grimsey	21	0,27	<0,001

Dans un deuxième temps, cette même analyse a été faite à partir des sites pour trois races de tiques. Au vu des résultats des AMOVA (tabl. III), il semblerait qu'il y ait un effet du site uniquement pour les borrélioses provenant des tiques collectées sur deux des trois espèces considérées, les tiques de macareux et de guillemots. Pour les borrélioses des tiques de mouettes, le site n'a pas d'effet sur leur divergence, avec une répartition homogène des souches présentes entre sites. Néanmoins, une augmentation du nombre de sites d'échantillonnage et du nombre de séquences par site serait utile pour confirmer la généralité de tels patterns.

Tableau III : Description de la structuration de *B. garinii* entre sites pour trois races d'*Ixodes uriae* obtenue à partir d'une analyse de variance moléculaire (AMOVA). La différenciation entre populations est estimée par Φ_{ST} . Les chiffres en gras sont significatifs.

Hôte	N	Est. Φ_{ST}	Valeur de P
Guillemot de Troil	14	0,28	0,014
Macareux moine	38	0,17	0,002
Mouette tridactyle	14	0	0,52

4. DISCUSSION

Nous avons évalué la diversité et la structure des borrélioses isolées dans un cycle tout à fait original de la borréliose de Lyme: le cycle marin. Ce cycle fait intervenir différentes espèces d'oiseaux de mer coloniaux et la tique *Ixodes uriae*, un ectoparasite qui se spécialise sur ces différentes espèces d'oiseaux. Notre étude visait à évaluer l'influence de la spécialisation des tiques vectrices dans la diversité des borrélioses. Si la spécialisation des tiques vectrices est une contrainte importante pour la transmission du

microparasite, on s'attendait à une structuration de la prévalence et de la variation génétique du microparasite entre races de tiques et à différentes échelles spatiales en fonction de ces races. Nos résultats sont cohérents avec ces prédictions.

Globalement, la prévalence était forte dans le système marin avec 26 % des tiques infectées. Néanmoins, l'infection variait significativement en fonction des races d'hôtes de tiques et des sites géographiques. Par exemple, la prévalence était variable entre races de tiques dans seulement deux des quatre colonies et seules les tiques récoltées sur les pingouins torda montraient un taux d'infection très faible. La faible prévalence chez les tiques de pingouin pourrait être due à une faible compétence de ces vecteurs et/ou de ces oiseaux pour la borrelie, cependant cet oiseau a été déjà décrit comme hôte compétent pour la borrelie [20]. Plus généralement, ces différences pourraient être expliquées par la nature dynamique de la divergence des tiques en fonction de l'hôte oiseau. En effet, des études sur ce système suggèrent que la formation des races de tiques est en cours et pourrait avoir lieu en parallèle dans différentes zones géographiques [17], (Kempf et McCoy, données non publiées). Dans certaines colonies, les tiques sont potentiellement moins spécifiques de l'hôte que dans d'autres colonies, ce qui pourrait résulter en une prévalence plus homogène dans ces colonies. Des études, actuellement en cours, sur la structuration détaillée des tiques au sein des colonies considérées ici nous fourniront les données pour tester cette hypothèse plus explicitement. Il faut souligner que les échantillons considérés dans cette étude ont été largement collectés dans des zones limitées au sein des colonies et que la prévalence de la borrelie pourrait varier à cette échelle spatiale [11]. Nous avons également récolté des tiques sur des années différentes en Islande (2003) et en Norvège (1998). Si l'infection par les borrelies varie significativement dans l'espace et dans le temps, il serait important d'étudier la variabilité de ces prévalences au sein des colonies et entre années de récolte pour mieux comprendre le fonctionnement de chaque système hôte-tique. Un tel travail devra aussi considérer plus spécifiquement l'effet du stade de développement de la tique (nymphe ou adulte femelle).

Si l'isolement par races de tiques ou par zones géographiques peut avoir un effet sur la prévalence des borrelies, il peut également avoir un effet sur la divergence moléculaire de celles-ci. Nos résultats soutiennent cette prédiction puisque les estimations de divergence (Φ_{ST}) entre borrelies des tiques collectées sur différents hôtes pour trois des quatre sites sont fortes ($\Phi_{ST} > 0,14$). De plus, un effet du site a été trouvé pour les tiques de macareux et de guillemot. Ceci n'était pas le cas pour les tiques de mouette. Ce résultat suggère donc que l'isolement de la borrelie diffère selon les différents systèmes de races de tiques. Ici, nous avons utilisé un gène

conservé pour examiner la diversité et la structure des borrelies. Il est donc possible que la structure et la diversité selon la race de vecteur soient plus fortes à d'autres marqueurs. Une étude par MLSA (multi-locus sequence analysis; [24]) sera nécessaire pour mieux évaluer la nature de la diversité présente dans ce système.

Nos résultats sont cohérents avec l'isolement en fonction de races de tiques mais ceci pourrait aussi être expliqué par l'adaptation des borrelies pour les oiseaux eux-mêmes. Cette hypothèse semble peu probable car aucune association entre isolat de borrelie et espèce oiseau n'a été suggérée par des analyses du gène de la flagelline (voir [7]). Néanmoins, l'analyse de la variabilité au niveau de gènes soumis à sélection tel que l'*ospC* (outer surface protein C), impliqué dans l'infection de l'oiseau par la borrelie [2], ou l'*ospA* (outer surface protein A), impliqué dans la capacité pour la borrelie à résider dans la tique [21], pourrait nous renseigner sur l'importance relative des hôtes oiseaux et des vecteurs tiques dans la divergence des borrelies.

D'un point de vue épidémiologique et écologique, l'estimation de la prévalence d'un pathogène est cruciale afin de connaître la pression potentielle que le parasite peut exercer sur l'écosystème. Dans la littérature, la prévalence de la borrelie chez les tiques du cycle terrestre peut être très forte, par exemple, une prévalence de 33 % chez les nymphes de *I. ricinus* a été trouvée en Alsace, France [8]. Nos données indiquent que la prévalence peut également être forte dans le système marin. Ceci confirme que la présence de la borrelie dans le cycle marin est endémique et que, en fonction de la liaison entre cycle marin et terrestre, ce cycle pourrait servir de réservoir pour les agents de la borreliose [19]. Clairement, l'existence d'associations indépendantes pour chaque système hôte oiseau-tique pourrait avoir un effet important sur la distribution des isolats car chaque oiseau a ses propres tendances de dispersion [16].

Dans le cadre de cette étude nous avons détecté la présence de trois espèces de *B. burgdorferi s.l.* dans le cycle marin: *B. garinii* déjà connue dans ce système [20], *B. lusitaniae*, une espèce typiquement associée aux pays chauds [30] et soupçonnée d'être aussi pathogène [6], et *B. burgdorferi sensu stricto*, une espèce considérée comme généraliste [13]. Cette étude représente les premières détections des espèces *B. lusitaniae* et *B. burgdorferi s.s.* au nord de l'Europe et chez les oiseaux de mer. Néanmoins, des analyses génétiques plus détaillées seront nécessaires pour savoir si ces isolats correspondent réellement à *B. lusitaniae* et *B. burgdorferi s.s.*, ou bien à des espèces apparentées (voir ci-dessus). Ces analyses pourraient aussi nous aider à identifier la liaison potentielle entre les cycles marin et terrestre de la borrelie. Est-ce que les oiseaux de mer sont vraiment responsables de la dissémination globale de cette bactérie ou est-ce que le transfert des bactéries entre cycles est rare ?

Peu d'études à ce jour prennent en compte l'importance de l'hôte vecteur dans l'évolution des micropathogènes. Ici, nous avons pu mettre en évidence que l'évolution des races de tiques peut avoir des conséquences en cascade sur la distribution et la diversité génétique des souches de bactéries. Plus généralement, on sait maintenant que la structure et la compétence des vecteurs peuvent varier selon l'espèce et les populations considérées dans de nombreux systèmes à vecteur (*e.g.* plasmodium – moustiques; mouches tsé-tsé – trypanosomes ; [12]). Le rôle du vecteur dans l'écologie et l'évolution des pathogènes devraient donc à l'avenir être pris en compte plus largement afin de mieux comprendre ces systèmes dont l'épidémiologie est cruciale en terme de santé publique.

REMERCIEMENTS

Nous voudrions remercier D. Postic et M. Garnier (Centre de Référence des Spirochètes, Institut Pasteur de Paris), A. Petersen, T. Tverra, R.T. Barrett, E. Gomez-Diaz, C. Barnabé, V. Staszewski et les membres du groupe «Tiques et Maladies à Tiques» du REID pour leurs avis et assistances. En plus d'un soutien du BRG, nous reconnaissons des financements de recherche attribués par l'Agence Nationale de Recherche et de l'Institut Polaire Français – IPEV (programme 333).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Azad A.F., Beard C.B., 1998. - Rickettsial pathogens and their arthropod vectors. *Emerg. Infect. Dis.* 4:179-186.
- [2] Brisson D., Dykhuizen D.E., 2004. - *ospC* diversity in *Borrelia burgdorferi*: different hosts are different niches. *Genetics* 168:713-722.
- [3] Bunikis J., Tsao J., Luke C.J., Luna M.G., Fish D., Barbour A.G., 2004. - *Borrelia burgdorferi* infection in a natural population of *Peromyscus leucopus* mice: a longitudinal study in an area where Lyme borreliosis is highly endemic. *J. Infect. Dis.*, 189:1515-1523.
- [4] Chevenet F., Brun C., Banuls A.-L., Jacq B., Christen R., 2006. - TreeDyn: towards dynamic graphics and annotations for analyses of trees. *BMC Bioinformatics*, 7: 439.
- [5] Clark K., 2004. - *Borrelia* species in host-seeking ticks and small mammals in northern Florida. *J. Clin. Microbiol.*, 42:5076-5086.
- [6] Collares-Pereira M., Couceiro S., Franca I., Kurtenbach K., Schafer S.M., Vitorino L., Goncalves L., Baptista S., Vieira M.L., Cunha C., 2004. - First isolation of *Borrelia lusitaniae* from a human patient. *J. Clin. Microbiol.*, 42:1316-1318.
- [7] *Duneau D., Boulinier T., Gomez-Diaz E., Petersen A., Tveraa T., Barrett R.T., McCoy K.D., 2008 - Prevalence and diversity of Lyme borreliosis bacteria in marine birds. *Infect. Genet. Evol.*, 8:352-359.

- [8] Ferquel E., Garnier M., Marie J., Bernede-Bauduin C., Baranton G., Perez-Eid C., Postic D., 2006. - Prevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and Anaplasmataceae members in *Ixodes ricinus* ticks in Alsace, a focus of Lyme borreliosis endemicity in France. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72:3074-3078.
- [9] Gandon S., Michalakis Y., 2002. Local adaptation, evolutionary potential and host-parasite coevolution: interactions between migration, mutation, population size and generation time. *J. Evol. Biol.*, 15:451-462.
- [10] Galtier, N., Gouy, M., Gautier, C., 1996. - SEAVIEW and PHYLO_WIN: Two graphic tools for sequence alignment and molecular phylogeny. *Comput. Appl. Biosci.*, 12: 543-548.
- [11] Gasparini J., McCoy K.D., Haussy C., Tveraa T., Boulinier T., 2001. - Induced maternal response to the Lyme disease spirochaete *Borrelia burgdorferi sensu lato* in a colonial seabird, the kittiwake *Rissa tridactyla*. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 268:647-650.
- [12] Gooding R.H., 1996. - Genetic variation in arthropod vectors of disease-causing organisms: obstacles and opportunities. *Clin. Microbiol Rev.* 9:301.
- [13] Hanincova, K., Kurtenbach, K., Diuk-Wasser, M., Brei, B., Fish, D., 2006. - Epidemic spread of Lyme borreliosis, northeastern United States. *Emerg. Infect. Dis.*, 12: 604-611.
- [14] Johnson B., Happ C., Mayer L., Piesman J., 1992. - Detection of *Borrelia burgdorferi* in ticks by species-specific amplification of the flagellin gene. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 47:730-741.
- [15] McCoy K.D., Boulinier T., Tirard C., Michalakis Y., 2001. - Host specificity of a generalist parasite: genetic evidence of sympatric host races in the seabird tick *Ixodes uriae*. *J. Evol. Biol.*, 14:395-405.
- [16] McCoy K.D., Boulinier T., Tirard C., Michalakis Y., 2003. - Host-dependent genetic structure of parasite populations: differential dispersal of seabird tick host races. *Evolution*, 57:288-296.
- [17] McCoy K.D., Chapis E., Tirard C., Boulinier T., Michalakis Y., Le Bohec C., Le Maho Y., Gauthier-Clerc M., 2005. - Recurrent evolution of host-specialized races in a globally distributed parasite. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 272:2389-2395.
- [18] *McCoy K.D., Duneau D., Doherty P., Soumis. - Infected or not? Dealing with detection when estimating prevalence.
- [19] Olsen B., Duffy D.C., Jaenson T.G.T., Gylfe A., Bonnedahl J., Bergström S., 1995. - Transhemispheric exchange of Lyme disease spirochetes by seabirds. *J. Clin. Microbiol.*, 33:3270-3274.
- [20] Olsen B., Jaenson T.G.T., Noppa L., Bunikis J., Bergström S., 1993. - A Lyme borreliosis cycle in seabirds and *Ixodes uriae* ticks. *Nature*, 362:340-342.
- [21] Pal U., Li X., Wang T., Montgomery R.R., Ramamoorthi N., deSilva A.M., Bao F.K., Yang X.F., Pypaert M., Pradhan D., Kantor F.S., Telford S., Anderson J.F., Fikrig E., 2004. - TROSPA, an *Ixodes scapularis* receptor for *Borrelia burgdorferi*. *Cell*, 119:457-468.
- [22] Posada, D., Crandall, K. A., 1998. - MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14: 817-818.
- [23] Raymond M., Rousset F., 1995. - GENEPOP(version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.*, 86:248-249.

- [24] Richter D., Postic D., Sertour N., Livey I., Matuschka F.R., Baranton G., 2006. - Delineation of *Borrelia burgdorferi sensu lato* species by multilocus sequence analysis and confirmation of the delineation of *Borrelia spielmanii* sp nov. Int. J. System. Evol. Microbiol., 56:873-881.
- [25] Ricklefs R.E., Fallon S.M., 2002. - Diversification and host switching in avian malaria parasites. Proc. R. Soc. Lond. B, 269:885-892.
- [26] Rosa P.A., Tilly K., Stewart P.E., 2005. - The burgeoning molecular genetics of the Lyme disease spirochaete. Nature Rev. Microbiol., 3:129-143.
- [27] Schneider S., Roessli D., Excoffier L., 2000. - Arlequin ver. 2.0: A software for population genetics analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- [28] Stireman J.O., Nason J.D., Heard S.B., Seehawer J.M., 2006. - Cascading host-associated genetic differentiation in parasitoids of phytophagous insects. Proc. R. Soc. Lond. B, 273:523-530.
- [29] Swofford, D.L. 2002., - PAUP Version 4.10 Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other methods). Illinois Natural History Survey, Champaign, IL.
- [30] Younsi H., Sarih M., Jouda F., Godfroid E., Gern L., Bouattour A., Baranton G., Postic D., 2005. Characterization of *Borrelia lusitaniae* isolates collected in Tunisia and Morocco. J. Clin. Microbiol., 43:1587-1593.