

ZoNéCo

PROGRAMME D'ÉVALUATION DES RESSOURCES MARINES
DE LA ZONE ÉCONOMIQUE DE NOUVELLE-CALÉDONIE

Partenaires : ETAT, NOUVELLE-CALEDONIE,
PROVINCES DE NOUVELLE-CALEDONIE
IFREMER, IRD, METEO-FRANCE
OPT, SHOM, UNC.

Etat d'avancement des travaux de recherche

Rapport n°1

Septembre 2003

Titre de l'OPERATION :

**Identification génétique des populations
ichtyques marines de *Beryx splendens*
de la Zone Economique Exclusive
de la Nouvelle-Calédonie.**

Lauriana LEVY



TITRE

Identification génétique des populations ichtyques marines de *Beryx splendens* de la Zone Economique Exclusive de la Nouvelle-Calédonie.

RESUME DU PROJET INITIAL

La pêche calédonienne est développée de façon artisanale dans le lagon, mais une diversification a étendu la pêche dans les eaux du large, en ciblant les grands pélagiques (thons, espadons, voiliers, marlins (VIRLY, 1996)). La pêche cible donc aujourd'hui principalement le thon au-delà du talus continental et les espèces profondes des monts sous-marins (AUZENDE *et al.*, 1999).

Le développement de la pêche dans les eaux calédoniennes nécessite une évaluation détaillée de la ressource. Afin d'éviter tout problème de surexploitation, il est nécessaire de diversifier la pêche et d'évaluer les biomasses existantes, par espèce et par zone géographique, cette dernière étant souvent définie de façon arbitraire faute de données réalistes sur les caractéristiques de populations. En effet, il est nécessaire de préciser les limites des populations pour ensuite définir les quantités autorisées à la pêche dans le cadre d'une gestion raisonnée.

Une première campagne d'exploration (1996, sur le N/O néo-zélandais Tangaroa) a permis d'avoir un premier aperçu sur les ressources de la Zone Economique de la Nouvelle-Calédonie (ZEE), notamment sur les espèces profondes (GRANDPERRIN *et al.*, 1997). Cependant, dans ce milieu très diversifié, il est nécessaire de réaliser une évaluation plus détaillée des populations et de leurs limites si l'on souhaite développer une pêche raisonnée et raisonnable, adaptée aux conditions locales. D'où la nécessité de développer rapidement les outils permettant d'évaluer avec précision les stocks présents, pour mettre en place une exploitation halieutique adaptée, tout en restant respectueux des ressources locales.

RESPONSABLE(S) DE L'OPERATION

Doctorant : Lauriana LEVY (UNC)

Directeur(s) de thèse : Claude CHAUVET (UNC) ; Daniel SELLOS (MNHN Concarneau)

Accueillants IRD : Une demande d'accueil à l'IRD avait été formulée puis concrétisée sur le papier par l'établissement d'une convention régissant l'accueil de la Doctorante au sein de deux unités de recherche (UR « Interactions génomes, Populations, Environnement chez les Poissons tropicaux » avec Philippe BORSA pour la partie Génétique et UR « Connaissances des flores et faunes marines tropicales avec Bertrand RICHER DE FORGES pour la Biodiversité des Monts sous-marins). Malheureusement et malgré le fait que cette convention ait été signée par toutes les parties concernées, l'accueil « matériel » (bureau, laboratoire de génétique, internet, ...) ne s'est pas concrétisé et l'étudiante n'a pas pu bénéficier d'une quelconque aide à ce niveau.

PLANNIFICATION INITIALE

Laboratoire(s) d'accueil :

Station de Biologie Marine de Concarneau (antenne MNHN) – Laboratoire d'Evolution Moléculaire (D. SELLOS)

Echéancier prévisionnel : (3 années de thèse)

1^{ère} année :

Bibliographie

Echantillonnage dans les différents secteurs géographiques

Extractions d'ADN

Production de fragments d'ADN et Caractérisation en électrophorèse

Détermination des marqueurs moléculaires

2^{ème} année :

Détermination des sondes spécifiques

Extractions en série d'ADN sur des échantillons représentatifs

Validation du niveau de polymorphisme de ces marqueurs

Production d'un rapport d'avancement des travaux

3^{ème} année :

Réalisation des manipulations en série (suite et fin)

Traitement informatique des données et analyse

Production d'un rapport final

CONTENU DU PROJET

Il est proposé d'effectuer l'identification des stocks ou des populations en utilisant des caractères génétiques. Cette identification constitue la première étape indispensable avant même la détermination d'autres paramètres tels que la structure démographique, la croissance, le taux de renouvellement, l'évaluation de l'état des stocks, leur productivité. Elle conditionne la définition du potentiel exploitable local et également à plus long terme la détermination des TAC (tonnages autorisés à la capture). La séparation géographique des différents stocks d'une même espèce est la base du système permettant d'ajuster les quotas à la réalité biologique.

Cette étude pourrait permettre d'apporter les moyens d'une identification fiable des organismes et des populations de poissons d'intérêt économique en appliquant des techniques génétiques (biologie moléculaire et génétique des populations) pour la caractérisation des populations et la discrimination des stocks de poissons, de préférence des espèces cibles, à risque de surexploitation et à fort intérêt économique.

L'analyse comparative des ADN des espèces sera réalisée, ceci afin d'établir et de comprendre les relations entre populations. De courts fragments ubiquistes de l'information génétique seront définis pour les espèces choisies et utilisés pour identifier les différentes populations et discriminer les stocks (phylogéographie).

Présentation de la problématique biologique :

L'aire de distribution des espèces se présente généralement selon deux modèles :

- *Hypothèse 1* : une aire continue sur une vaste zone géographique

- *Hypothèse 2* : plusieurs aires discontinues, isolées les unes des autres

Dans le premier cas, il convient de déterminer s'il existe une seule population ou plusieurs populations distinctes juxtaposées

Si au contraire les adultes ont une répartition discontinue, il convient de déterminer si ces agrégations correspondent à des unités de stocks complètement indépendantes ou si les juvéniles (ou recrues) proviennent de la même aire de ponte.

L'identification de spécimens d'une même espèce, récoltés dans les différents secteurs de la Zone Economique de Nouvelle-Calédonie peut apporter des arguments en faveur de l'une ou de l'autre des hypothèses.

Choix des espèces :

Le choix des espèces a logiquement été effectué en fonction de leurs potentialités à être exploitées par les pêcheries commerciales et de leurs modèles de répartition.

L'espèce principalement ciblée par la pêche industrielle est le Berycidae *Beryx splendens*, capturée entre 500 et 800 m (SERET et al., 1997). Cette étude aura donc en premier lieu pour objectif de caractériser génétiquement les populations de *Beryx splendens*.

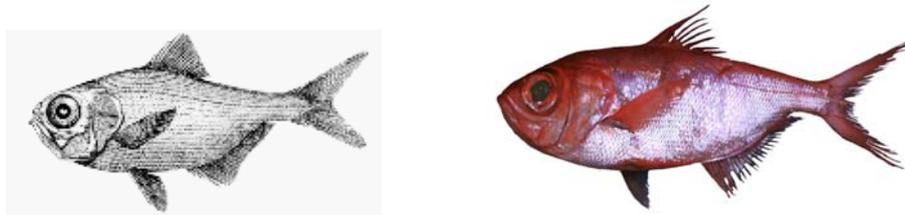


Figure 1 : *Beryx splendens*, Lowe 1834

Une étude halieutique de 1991 à 1993 a permis de préciser la biologie de *Beryx splendens* et de définir les paramètres d'exploitation des stocks (LEHODEY, 1994).

D'autres travaux (HOARAU et al., 1999 ; HOARAU & BORSA, 2000) sur la génétique des populations de cette espèce semblaient montrer que deux espèces jumelles étaient en fait désignées sous le seul nom de *Beryx splendens* et que celles-ci présentaient des flux géniques très élevés. Ces espèces jumelles étant pour le moment observées au Nord de la Nouvelle-Calédonie et dans les Iles Loyauté, sous forme de populations isolées.

Les conclusions de ces études préliminaires demandent encore confirmation. En effet, s'il apparaît très nettement que les stocks de *Beryx* se présentent sous la forme de différentes populations entre lesquelles il n'y aurait pas d'échange, la gestion de ces ressources comme plusieurs petits stocks séparés et particulièrement vulnérables devrait s'envisager de façon raisonnée et en connaissance de cause. Au contraire, dans l'hypothèse où les spécimens de *Beryx* appartiendraient à un seul et même stock, la biomasse vierge exploitable a été estimée à environ 2000 tonnes (LEHODEY, 1994). *B. splendens* a déjà fait l'objet d'une exploitation commerciale ; la prise maximale soutenue alors s'est située entre 395 et 468 t/an et aucune baisse importante des rendements, signe de surpêche, n'a alors été observée.

Parallèlement, d'autres approches pourront être menées afin de réaliser le même type de discrimination génétique, à l'échelle inter-océanique, sur des espèces aujourd'hui non commercialisées en Nouvelle-Calédonie mais qui le sont sous d'autres latitudes, par exemple *Pentaceros decacanthus* et *Pseudopentaceros richardsoni*. Ces deux espèces occupent les mêmes habitats que *Beryx splendens* et sont fréquemment pêchées au cours des mêmes traits. Il serait donc intéressant de se pencher sur leurs caractéristiques génétiques au même titre que *Beryx splendens*, d'autant plus que ces Pentacerotidae présentent également un potentiel économique. La comparaison des structures génétiques de leurs populations peut aider à une meilleure interprétation générale.



Fig. 2 : *Pseudopentaceros richardsoni* (Smith, 1844)* **Fig. 3 :** *Pentaceros decacanthus* Günther, 1859*

* Photographies : Lauriana LEVY

Choix des marqueurs :

De nombreux marqueurs moléculaires peuvent être utilisés en biologie moléculaire. Le choix se fera le plus souvent en fonction de la variabilité propre du marqueur. C'est ainsi par exemple que notre préférence portera dans un premier temps vers le Cytochrome b et la D-loop, cette dernière étant considérée comme étant hypervariable.

Lorsque l'on travaille au niveau intra-spécifique, la mise en évidence de l'homologie des caractères moléculaires repose sur deux impératifs difficiles à concilier :

- les séquences utilisées doivent d'une part être suffisamment variables pour être informatives,
- mais suffisamment conservées pour pouvoir être alignées et comparées entre elles.

L'ADN génomique peut être nucléaire ou mitochondrial. Cependant le taux de mutations nucléotidiques est de 5 à 10 fois inférieur dans le noyau que dans les mitochondries. Le choix ici de marqueurs mitochondriaux est lié à la considération de 2 paramètres :

- Le rendement des amplifications pour des marqueurs mitochondriaux, représentés par un très grand nombre de copies cellulaires identiques (de 1000 à 1000000), reste supérieur à celui des marqueurs nucléaires.
- Etant donné que notre problématique se situe pour partie au niveau intraspécifique, où le taux d'évolution peut être relativement lent, il est alors intéressant de bénéficier de marqueurs à évolution rapide (nombre de mutations nucléotidiques 5 à 10 fois supérieur à celui du génome nucléaire, ce qui augmente *a priori* leurs capacités de résolution) et affranchis des problèmes de recombinaison intragénétique.

Le génome mitochondrial est petit (de 17000 à 18000 paires de bases chez les poissons osseux, OHNO, 1974), circulaire et de structure simple (cf. Fig.4). Il est haploïde (un seul type par individu) et est transmis maternellement.

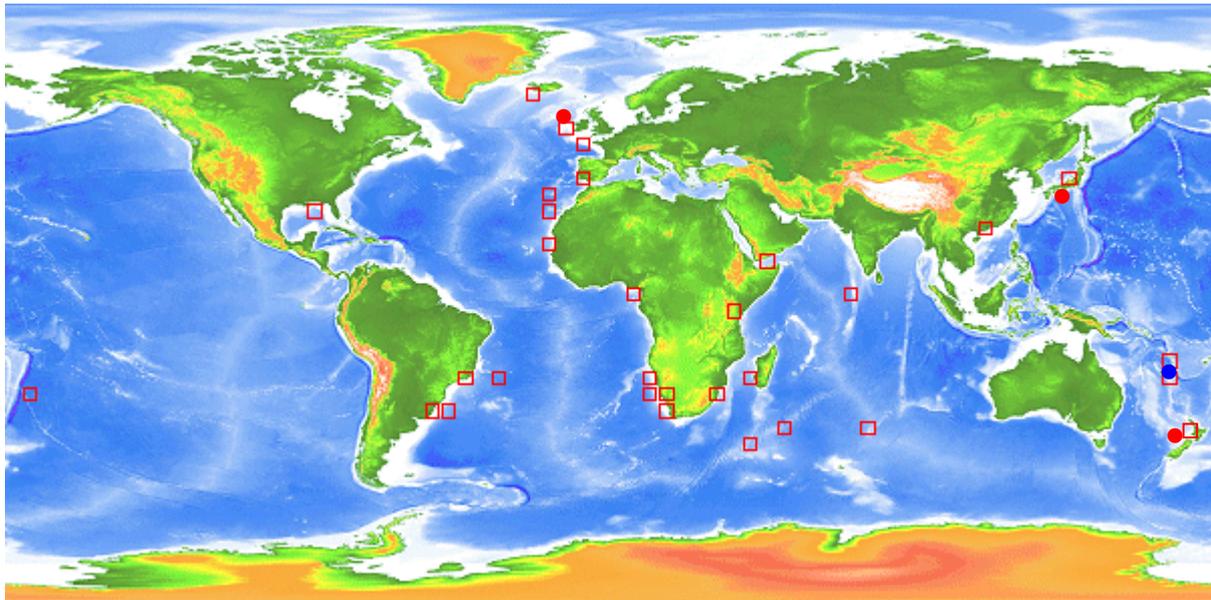
N.B. : On peut espérer qu'un marqueur transmis maternellement peut relativement bien représenter le maximum de variabilité (RUVOLO, 1994).

Le génome mitochondrial est extrêmement condensé. La totalité du génome étant codante, soit pour des protéines, soit pour des ARNs, les gènes subissent une forte pression assurant le maintien des séquences.

PRESENTATION DU CADRE DE L'ECHANTILLONNAGE

Une des premières étapes du travail consiste à se procurer et à rassembler la totalité des échantillons nécessaires à la réalisation du travail de recherche.

Cependant et bien que le travail cible en priorité une discrimination et une répartition génétique précises des stocks locaux de *Beryx splendens*, l'acquisition d'échantillons « étrangers », qu'il s'agisse de l'espèce cible ou d'espèces annexes, constitue une condition indispensable.



- Echantillons étrangers (Atlantique N-E, Japon et N^{elle}-Zélande)
- Echantillons locaux (NC)

Figure 6 : Distribution mondiale de *Beryx splendens*.

En effet, l'appréciation de la qualité génétique des populations locales nécessite une comparaison inter-populations à l'échelle mondiale, autrement dit, une comparaison génétique inter-océanique. Disposant de ce matériel biologique, il sera possible de réaliser à titre d'exemple des calculs de flux géniques qui permettront de juger de l'évolution génétique des populations.

Dans le cadre de cette étude, il a été choisi de comparer les échantillons locaux de *Beryx splendens* avec un stock néo-zélandais, un autre du Japon et enfin avec un lot d'Atlantique Nord-Est.

RESULTATS ATTENDUS

Résultats scientifiques escomptés :

- Mettre en place et utiliser des outils génétiques et moléculaires permettant de démontrer ou d'infirmier l'existence d'une ou de plusieurs populations de *B. splendens* et autres espèces à potentiel économique dans la Zone Economique de Nouvelle-Calédonie,

- Connaître et établir les cartes de distribution des différents stocks.
- Mieux comprendre les mécanismes de dispersion et/ou sédentarisation liés aux populations ichtyques des monts sous-marins ainsi que leur rythme d'évolution génétique en répondant à des questions telles que :
 - Le flux génique est-il proportionnel à la distance géographique ?
 - L'évolution génétique est-elle perceptible à l'échelle inter-monts sous-marins et/ou inter océans ?
 - L'évolution génétique varie-t-elle pour des espèces différentes mais côtoyant les mêmes habitats et donc soumises aux mêmes conditions de vie ?
 - A quel stade la dispersion spécifique a-t-elle lieu, si dispersion il y a ? Le stade larvaire joue-t-il un rôle à ce niveau ?
 - Les courants océaniques influencent-ils la répartition génétique des espèces ? Si oui, à quelle échelle ?

Intérêt pour le développement :

Les connaissances sur la structure génétique des stocks de *B. splendens* et autres espèces à potentiel économique sont d'un intérêt considérable pour :

- l'évaluation et la répartition géographique précise des différents stocks,
- la mise en place de quotas en vue d'un développement de la pêche profonde en Nouvelle-Calédonie,
- la bonne gestion de leurs pêcheries.

L'analyse des facteurs géographiques et démographiques de la diversité génétique au niveau intraspécifique répond en partie à l'une des questions posées par la communauté scientifique, à savoir, celle de l'origine, de la distribution et de la dynamique de la biodiversité.

Le *Beryx* constitue une des principales ressources halieutiques visées de façon préférentielle par la pêche commerciale. Les connaissances actuelles sur la biologie, l'écologie et leurs structures génétiques restent insuffisantes à ce jour pour envisager une **gestion rationnelle** de cette ressource. Le principe de **développement durable** imposant une logique de pêche, il est indispensable d'étayer les connaissances scientifiques dans ce domaine.

ETAT D'AVANCEMENT DE L'ETUDE

Obtention du budget de travail :

Une demande de budget « fonctionnement » a été formulée spécifiquement pour ce projet auprès du programme ZoNéCo début 2002. L'avis du comité de pilotage a été favorable mais la décision officielle n'ayant pris effet que tardivement, le budget n'a été attribué qu'en Mai 2003, date à laquelle l'obtention par achat des échantillons « étrangers » et la commande des produits de laboratoire ont logiquement pu débuter.

Obtention des échantillons de *Beryx splendens* :

Echantillons locaux :

Les échantillons locaux ont été obtenus en grande partie au cours des campagnes d'exploration réalisées par le navire OPERA (Armement ACP) au sein de la Zone Economique Exclusive (●) de la Nouvelle-Calédonie au cours de l'année 2002.

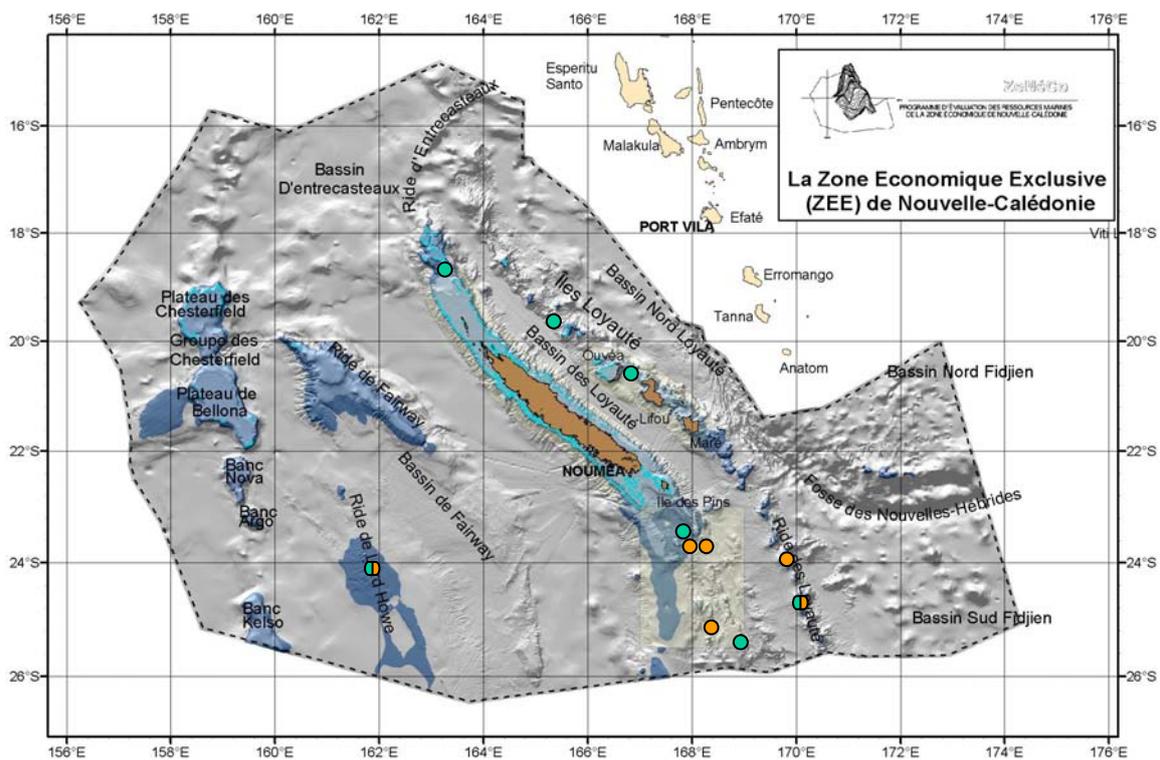


Figure 7 : Distribution des échantillons de *Beryx splendens* au sein de la ZEE de la Nouvelle-Calédonie.

Un complément qualitatif et/ou quantitatif de cet échantillonnage « géographique » est tenu à disposition par l'IRD (suite aux campagnes HALICAL et HALIPRO ●).

L'étudiante a embarqué à 5 reprises sur le chalutier de pêche au cours de l'année 2002 afin de multiplier les chances d'acquisition d'échantillons de localités différentes.



Figure 8 : Un exemple de prise de *Beryx splendens* à bord de l'OPERA.

Echantillons japonais

Concernant les échantillons japonais, de nombreux échanges ont été réalisés avec le Professeur Kazuhiro NAKAYA (Hakodate - HOKKAIDO UNIVERSITY – Laboratory of Marine Biodiversity – Graduate School of Fisheries Sciences). Résidant sur l'île du Nord, le Pr. NAKAYA a à son tour sollicité la collaboration du Pr. Hiroshi SENOU (Conservateur du Muséum d'Histoire Naturelle de Kanagawa) pour qui l'obtention de spécimens de *Beryx splendens* était plus aisée, l'espèce étant bien plus fréquente dans l'île du Sud.

Initialement estimé à 1000 ¥en (*) le poisson, le Pr. SENOU a réussi, le 22 Avril dernier, à obtenir à prix raisonnable et après plusieurs négociations, un lot d'une centaine d'individus directement auprès des pêcheurs locaux. Ainsi, 9 boîtes de 5 kg, contenant chacune 12-13 spécimens ont été négociées pour 42525 ¥en (*). Depuis, les étudiants du Pr. Nakaya ont effectué les biopsies (cf. illustrations ci-dessous) et les échantillons ont été envoyés par colis postal à la Station de Biologie Marine de Concarneau.

(*) Cours du ¥en à l'achat au 21 Mai 2003 : 0,8498800



Figure 9 : Biopsies de *Beryx splendens* par des étudiants japonais.

Echantillons d'Atlantique Nord-Est

Travaillant en collaboration étroite avec Daniel SELLOS (Station de Biologie Marine de Concarneau – Antenne MNHN), une demande d'échantillonnage de *Beryx splendens* a été formulée début Avril auprès de la criée de Concarneau. L'opération est donc en cours de réalisation.

Echantillons néo-zélandais

Concernant les échantillons de Nouvelle-Zélande, une centaine d'échantillons congelés et déjà disponibles avant la demande ont été gracieusement fournis par Peter SMITH de la NIWA. Un fret avion (carboglace) a permis l'envoi de ceux-ci directement en Nouvelle-Calédonie début Juillet 2003.

Obtention des échantillons « autres espèces » :

Une première série d'échantillons locaux de *Pseudopentaceros richardsoni* et *Pentaceros decacanthus* a pu être obtenue par l'étudiante au cours d'embarquements sur le chalutier de pêche OPERA (respectivement ~ 45 et 65). Un complément d'échantillonnage devrait être obtenu au cours d'une prochaine mission océanographique du N/O ALIS.

Accueil à la Station de Biologie Marine de Concarneau :

Un premier séjour de 3 mois a été effectué de début juillet à fin septembre au sein de la Station de Biologie Marine de Concarneau en Bretagne. Daniel SELLOS (Directeur adjoint et co-Directeur de cette thèse) a encadré et suivi l'étudiante tout au long de son travail.



Figure 10 : La Station de Biologie Marine de Concarneau – Antenne MNHN.

Ces 3 premiers mois de travail en laboratoire consistaient à mettre au point les marqueurs moléculaires qui seront ensuite utilisés en série sur des lots d'échantillons plus conséquents. Un deuxième séjour – prévu en début d'année 2004 – permettra de réaliser cette étape.

Résultats préliminaires :

De nombreuses manipulations ont été nécessaires quant à la définition et la mise au point des marqueurs moléculaires qui seront utilisés par la suite.

D'une façon générale et après définition et commande des amorces, le travail de laboratoire à effectuer sur chaque individu et pour chaque marqueur consistait en :

- Extraction d'ADN
- Vérification de la concentration et de la pureté par spectrométrie (fig.11)
- Amplification de fragment cibles par PCR
- Migration sur gel d'électrophorèse (fig.12)
- Découpe et Extraction du fragment sur mini-colonne
- Réactions de Séquences et Précipitation
- Analyse par séquenceur automatique (fig.13)
- Récupération des données informatiques

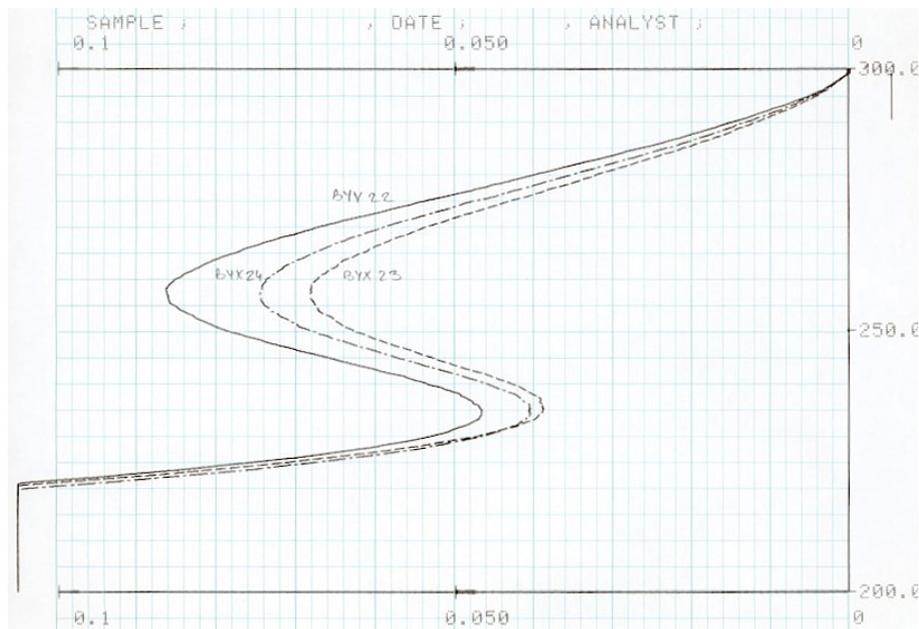


Figure 11 : Exemple de spectres de densité optique obtenus après extraction de l'ADN de 3 échantillons de *Beryx splendens*.

A ce jour, l'ADN génomique de 91 échantillons de *Beryx splendens*, répartis comme suit, a été extrait par la méthode au CTAB :

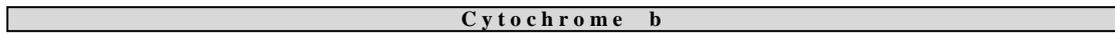
Japon	12
Nelle-Zélande	23
Nelle-Calédonie	56
Mont J	13
Mont K	14
Mont Jumeau Ouest	10
Mont Jumeau Est	15
Mont B	3
Mont Joker	1

Il a ensuite été nécessaire d'amplifier chaque ADN par PCR. Les fragments cibles, Cytochrome b et D-loop, mesurent respectivement ~ 1250 pb et 1100 pb. Les amorces d'amplification choisies ont été définies d'après la séquence mitochondriale disponible dans GENBANK (NC 003188 ; cf. annexe).

Il a alors été défini les couples d'amorces d'amplification PCR (sens et réverse) suivants :

Pour le Cytochrome b : ~ 1250 pb

BECYTS1



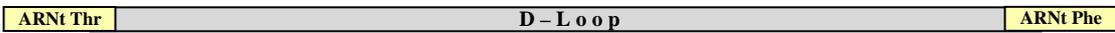
BECYTR4

BECYTS1 : 5' - x 24 nucléotides - 3'

BECYTR4 : 5' - x 23 nucléotides - 3'

Pour la région de contrôle D-loop : ~ 1100 pb

BEDLOS1



BEDLOR2

BEDLOS1 : 5' - x 23 nucléotides - 3'

BEDLOR2 : 5' - x 23 nucléotides - 3'

La totalité des ADN extraits (excepté l'échantillon BsNC 44 dont le pic de densité optique n'était pas assez satisfaisant pour envisager la suite de l'analyse) ont été utilisés pour amplification double (un essai Cytochrome b et un essai D-loop), soit 180 PCR minimum (un certain nombre d'amplifications « tests » ayant été nécessaires à la détermination des programmes PCR idéaux pour chacun des deux marqueurs (température optimale, nombre de cycles)).

Les 180 échantillons traités ont ensuite été mis à migrer sur gel d'agarose. Cette étape permet de récupérer, après migration, la bande de gel qui nous intéresse, à savoir le fragment Cytochrome b ou le fragment D-Loop, repérés grâce à un marqueur de taille λ .

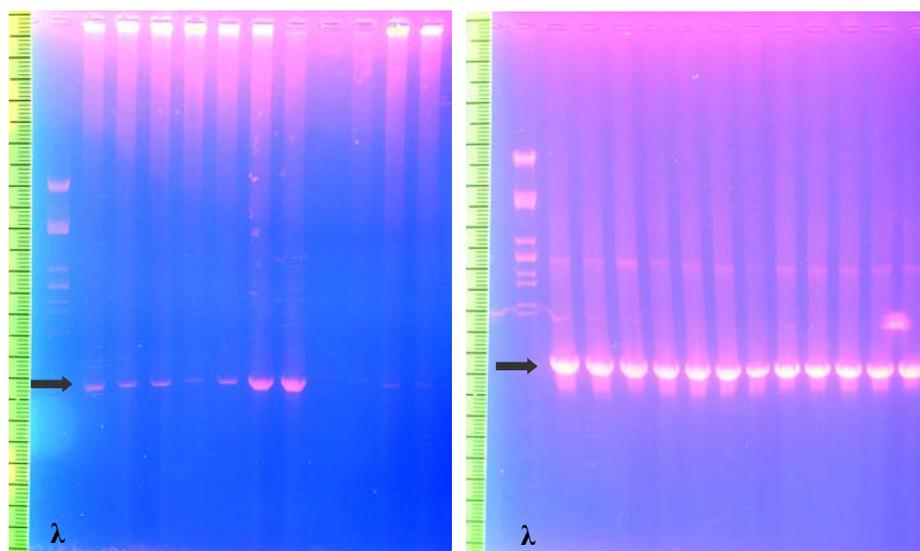


Figure 12 : Exemples de photographies de gel d'électrophorèses montrant la différence de qualité des signaux (variable ici d'un individu à un autre).

Chaque bande correspond à l'amplification d'un fragment donné (ici Cytochrome b ou D-loop) pour un individu. Après extraction de chacune des bandes (et uniquement dans le cas où celle-ci a été jugée comme étant suffisamment intense) du gel d'agarose, plusieurs étapes ont été nécessaires avant de passer au séquençage proprement dit. Ainsi, l'échantillon a régulièrement été reconcentré (Speed-Vac) ; puis les réactions de séquences ont été réalisées ainsi que la précipitation. Enfin, les tubes étaient prêts à être placés dans le séquenceur automatique.

Le séquenceur automatique disponible à la Station de Biologie Marine de Concarneau peut traiter une moyenne de 8 séquences par jour, soit 3h par séquence à passer. Un ordre de passage est établi en fonction des demandes et des « priorités ».

Remarque : Le séquenceur automatique n'a pu fonctionner pendant près d'un mois (~ août) pour cause de disfonctionnement interne, ralentissant le travail des étudiants de la Station et rallongeant la liste d'attente relative au passage des échantillons dans le séquenceur.

Sachant que le séquençage, pour 2 marqueurs moléculaires, de 90 échantillons nécessite un minimum de **45 jours** (en supposant que la machine fonctionne sans interruption, de façon exclusive pour cette étude et que le séquençage par 2 amorces soit suffisant pour l'obtention du fragment complet), il n'était pas concevable ni raisonnable de « bloquer » ainsi le matériel.

Il a donc été nécessaire de dresser une première liste d'échantillons à séquencer. Le choix a été fonction de la qualité des signaux obtenus après électrophorèse, couplée à la localité géographique.

Ainsi, il a été décidé de séquencer dans un premier temps une moyenne de 5 échantillons par localité géographique (excepté pour les monts B et Joker de Nelle-Calédonie et pour lesquels seuls 3 et 1 échantillons sont respectivement disponibles), soit :

JAPON	1 localité (5)	5 échantillons en D-Loop 5 échantillons en Cytochrome b
NELLE-ZELANDE	2 localités (5)	10 échantillons en D-Loop 10 échantillons en Cytochrome b
NELLE-CALEDONIE	6 localités Mont J (5) Mont K (5) Mont Jumeau Ouest (5) Mont Jumeau Est (5) Mont B (3 max) Mont Joker (1 max)	24 échantillons en D-Loop 24 échantillons en Cytochrome b

156 séquences ont ainsi été définies comme prioritaires et seront théoriquement passées en alternance dans le séquenceur au cours des 2 prochains mois (octobre / novembre).

Pour chaque séquence passée dans le séquenceur automatique, un chromatogramme (fig.13) est obtenu et permet la vérification de la séquence par relecture des pics associés aux nucléotides. Un long travail de correction est alors entamé avant de pouvoir rabouter et aligner chaque séquence entre elle. La totalité de ce travail est réalisé en utilisant l'outil informatique BIOEDIT.

La comparaison des séquences se fera ici par alignement de plus de 2000 paires de bases, ce qui multiplie les chances de mise en évidence de variabilité génétique et correspond à un travail scientifique « solide ».

Les étapes suivantes consisteront à travailler sur les données acquises à ce jour, alimentées de façon permanente par l'obtention de nouvelles séquences (résultats envoyés par mail de Concarneau), à mettre en place le plan de travail à suivre au cours des prochains mois, obtenir les échantillons « manquants » et à organiser un second séjour en Laboratoire à la Station de Biologie de Concarneau (prévu début 2004).

KEYWORDS .

SOURCE splendid alfonsino.

ORGANISM Mitochondrion [Beryx splendens](#)

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Neopterygii; Teleostei; Euteleostei; Neoteleostei;
Acanthomorpha; Acanthopterygii; Beryciformes; Berycidae; Beryx.

REFERENCE 1 (bases 1 to 16529)

AUTHORS Miya,M., Kawaguchi,A. and Nishida,M.

TITLE Mitogenomic exploration of higher teleostean phylogenies: a case
study for moderate-scale evolutionary genomics with 38 newly
determined complete mitochondrial dna sequences

JOURNAL Mol. Biol. Evol. 18 (11), 1993-2009 (2001)

MEDLINE [21519020](#)

PUBMED [11606696](#)

REFERENCE 2 (bases 1 to 16529)

AUTHORS Miya,M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (21-NOV-2000) Department of Zoology, Natural History
Museum & Institute, 955-2 Aoba-cho, Chuo-ku, Chiba 260-8682, Japan

COMMENT REVIEWED [REFSEQ](#): This record has been curated by NCBI staff. The
reference sequence was derived from [AP002939](#).

FEATURES Location/Qualifiers

source	1..16529
	/organism="Beryx splendens"
	/organelle="mitochondrion"
	/db_xref="taxon:88663"
tRNA	1..68
	/product="tRNA-Phe"
rRNA	69..1017
	/product="12S ribosomal RNA"
tRNA	1018..1090
	/product="tRNA-Val"
rRNA	1091..2784
	/product="16S ribosomal RNA"
tRNA	2785..2858
	/note="codons recognized: UUR"
	/product="tRNA-Leu"
gene	2859..3833
	/gene="ND1"
CDS	2859..3833

/gene="ND1"
/codon_start=1
/transl_table=[2](#)
/product="NADH dehydrogenase subunit 1"
/protein_id="[ND1_15836](#)"
/db_xref="GI:16357038"
/translation="MISTLTTHILNPLAFIVPVLLAVAFLLERKVLGYMQLRKGN
VVGPGYLLQPIADGVKLFKEPVRPSTSSPVFLVTPMLALTLALTLWAPMPLPYPVI
DLNLGILFILALSSLAVYSILGSGWASNSKYALMGALRAVAQTISYEVSGLILLNII
IFTGGFTLQTFNVAQESIWLILPAWPLAAMWYISTLAETNRAPFDLTEGESELVSGFN
VEYAGGPFALFFLAEYANILLMNTLSATLFLGASHIPTIPELTAMNLMTKAALLSVVF
LWVRASYPRFRYDQLMHLIWKNFLPLTLALVIWHLALPIAFAGLPPQL"

[tRNA](#) 3840..3911

/product="tRNA-Ile"

[tRNA](#) complement(3910..3980)

/product="tRNA-Gln"

[tRNA](#) 3980..4048

/product="tRNA-Met"

[gene](#) 4049..5095

/gene="ND2"

[CDS](#) 4049..5095

/gene="ND2"

/codon_start=1

/transl_table=[2](#)

/product="NADH dehydrogenase subunit 2"

/protein_id="[ND2_15836](#)"

/db_xref="GI:16357039"

/translation="MNPYILATLLFGLGLGTTITFASSHWLLAWMGLEMNTLAIPLM
AQHHHPRAVEATTKYFLTQATAAAMILFASTTNAWLTGQWDIQQMSHPLPITIITLAL
ALKIGLAPVHWSWLPEVLQGLDLTTGLILSTWQKLAPFALLLQIQPANPTTMIALGLMS
TLVGGWGGLNQTQLRKILAYSSIAHLGWMILIIQFNPSLTLLALLTYFIMTFSTFLVF
KLNNSTNINTLATS WAKSPALTALMPLVLLSLGGLPPMTGFAPKWLILQELAKQGLAP
TATLAALTALLSLYFYLRLSYAMTLTMSPNNLTNTMPWRLPLLQHTMPLALSTMATIS
LLPLTPAATALLTP"

[tRNA](#) 5095..5167

/product="tRNA-Trp"

[tRNA](#) complement(5169..5237)

/product="tRNA-Ala"

[tRNA](#) complement(5239..5311)

/product="tRNA-Asn"

[tRNA](#) complement(5343..5408)
/product="tRNA-Cys"

[tRNA](#) complement(5409..5476)
/product="tRNA-Tyr"

[gene](#) 5478..7028
/gene="COX1"

[CDS](#) 5478..7028
/gene="COX1"
/codon_start=1
/transl_table=[2](#)
/product="cytochrome c oxidase subunit I"
/protein_id="[COX1_15836](#)"
/db_xref="GI:16357040"
/translation="MAITRWFFFSTNHKDIGTLYLVFGAWAGMVG TALSL LIRAELSQP
GALLGDDQIYNVIVTAHAFVMIFFMVMPI M IGGFGNWL I PLMIGAPDMAFPRMNNMSF
WLLPPSFLLLLASSGVEAGAGTGWTVYPP LAGNLAHAGASVDLTIFSLHLAGVSSILG
AINFITTIINMKPPAISQYQTPLFVWAVLITAVLLLLSLPVLAAGITMLLTDRNLNTT
FFDPAGGGDPILYQH LFWFFGHPEVYILILPGFGMISHIVAYYS G KKEPFGYMGMVWA
MMAIGLLGFIVWAHMF TVGMDVDTRAYFTSATMIIA IPTGVK VFSWLATLHGGSIKW
ETPLLWALGFIFLFTVGGLTGIVLANSSLDIVLHDTYVVVAHFHYVLSMGAVFAIVAA
FVHWFPLFTGYTLHDTWTKIHFAVMFLGVNLTFFPQHFLGLAGMPRRYSDYPDAYTLW
NTVSSMGSLVSLVAVIMFLFIIWEAFAAKREVLSVELTATNVEWLHGCPPPYHTFEEP
AFVLVQAD"

[tRNA](#) complement(7029..7100)
/note="codons recognized: UCN"
/product="tRNA-Ser"

[tRNA](#) 7103..7174
/product="tRNA-Asp"

[gene](#) 7188..7878
/gene="COX2"

[CDS](#) 7188..7878
/gene="COX2"
/note="TAA stop codon is completed by the addition of 3' A
residues to the mRNA"
/codon_start=1
/transl_except=(pos:7878,aa:TERM)
/transl_table=[2](#)
/product="cytochrome c oxidase subunit II"
/protein_id="[COX2_15836](#)"
/db_xref="GI:16357041"

/translation="MAHPSQLGFQDAASPVMEELLHFHDHALMIVFLISTLVLYIIVA
MVSTKLTNKFILDSQEIEIWTVLPVILILIALPSLRILYLMDEINDPHLTIKAMGH
QWYWSYEYTDYEDLGFDSYMIPTQDLAPGQFRLLLEADHRMVIPVESPIRILVSAEDVL
HSWAVPAMGVKMDAVPGRLNQTAFIASRPGVFYGCSEICGANHSFMPIVVEAVPLEH
FEDWSLLMLQDA"

[tRNA](#) 7879..7953

/product="tRNA-Lys"

[gene](#) 7955..8122

/gene="ATP8"

[CDS](#) 7955..8122

/gene="ATP8"

/codon_start=1

/transl_table=[2](#)

/product="ATP synthase F0 subunit 8"

/protein_id="[ATP8_15836](#)"

/db_xref="GI:16357042"

/translation="MPQLNPAPWFAILIFSWLIFLTLFPPKVLAHTFPNELTTQSTES
PNTQAWNWPWS"

[gene](#) 8113..8796

/gene="ATP6"

[CDS](#) 8113..8796

/gene="ATP6"

/codon_start=1

/transl_table=[2](#)

/product="ATP synthase F0 subunit 6"

/protein_id="[ATP6_15836](#)"

/db_xref="GI:16357043"

/translation="MILSFFDQFMSPTYLGIPLIALALSLPWILYPAPTSRWLNNRLL
ALQGWFINRFTQQLLLPMSLGGHKWAALFTSLMLFLITLNMLGLLPYFTPTTQLSLN
MGLAVPLWLATVIIGMRNQPTHALGHLLPEGTPLLIPVLIIEITISLFIRPLALGVR
LTANLTAGHLLIQLIATATAVLAPLMPTVAILTGTLTTTTLLEAVAVAMIQAYVFVLL
LSLYLQENV"

[gene](#) 8796..9581

/gene="COX3"

[CDS](#) 8796..9581

/gene="COX3"

/codon_start=1

/transl_table=[2](#)

/product="cytochrome c oxidase subunit III"

/protein_id="[COX3_15836](#)"

/db_xref="GI:16357044"
/translation="MAHQAHAYHMVDPSPWPLTGAIALLMTSGLAIWFHFHSTLLMT
LGLVLLLLTMYQWWRDIIREGTFQGHHTPPVQKGLRYGMVLFITSEVFFFLGFFWAFY
HASLAPPELGGCWPPTGIITLDPFEVPLLNTAVLLASGVTVTWAHHSIMEGERKQAI
HSLGLTILLGFYFTFLQAMEYYEAPFTIADGVYGSTFFVATGFHGLHVIIGSTFLAVC
LIRQIQYHFTSEHHFGFEAAAWYWHFVDVWVWFLYISYIYWWGS"

[tRNA](#) 9581..9652

/product="tRNA-Gly"

[gene](#) 9653..10003

/gene="ND3"

[CDS](#) 9653..10003

/gene="ND3"

/codon_start=1

/transl_table=[2](#)

/product="NADH dehydrogenase subunit 3"

/protein_id="[ND3_15836](#)"

/db_xref="GI:16357045"

/translation="MNLVLTITITALLSSVLALVSFWLPQMTPDYEKLSPEYECGFDP
LGSARLPFSLRFFLIAILFLFDLEIALLLPLWGDQLVSPLYTFIWATAVLMMLTLG
LIYEWTQGGLEWAE"

[tRNA](#) 10002..10071

/product="tRNA-Arg"

[gene](#) 10072..10368

/gene="ND4L"

[CDS](#) 10072..10368

/gene="ND4L"

/codon_start=1

/transl_table=[2](#)

/product="NADH dehydrogenase subunit 4L"

/protein_id="[ND4L_15836](#)"

/db_xref="GI:16357046"

/translation="MTPVHFSFSSAFILGLVGLAFHRTHLLSALLCLEGMMLSLYIAL
SLWALQLDATGYSASPMLLLAFSACEASAGLALLVATARTHGTDRQLQSLNLLQC"

[gene](#) 10362..11742

/gene="ND4"

[CDS](#) 10362..11742

/gene="ND4"

/note="TAA stop codon is completed by the addition of 3' A
residues to the mRNA"

/codon_start=1

/transl_except=(pos:11742,aa:TERM)
/transl_table=[2](#)
/product="NADH dehydrogenase subunit 4"
/protein_id="[ND4_15836](#)"
/db_xref="GI:16357047"
/translation="MLKILIPTLMLVPTTWLTPAKWLWPTTLGQSLVIALISLTWLGH
LSETGWSTLNTFMATDPLSTPLLVLTCWLLPLMILASQNHMTPEPQNRQRMYISLLTS
LQVFLILAFGATEIIMFYVMFEATLIPTLIIITRWGNQTERLNAGTYFLFYTLAGSLP
LLVALLLLQNDTGTLSMLTLQYAKPLQLTSYADKLWWAGCLLAFLVKMPLYGVHLWLP
KAHVEAPIAGSMVLAHVLLKGGYGMRRMMIMLDPLTKELSYPFIFALWGIIMTGS
CLRQTDLKSLIAYSSVSHMGLVAGGILIQTPWGFTGALILMIAHGLASSALFCLANTN
YERTHSRTMVLARGLQMVLPLMTTWWFIASLANLALPPLPNLMGELMIITSLFNWSWW
TLLLTGTGLITAGYSLYMFLMTQRGPLPTHIIALDPSHSREHLLMALHLIPLILLIM
KPELIWGWTA"

[tRNA](#) 11743..11811

/product="tRNA-His"

[tRNA](#) 11812..11879

/note="codons recognized: AGY"

/product="tRNA-Ser"

[tRNA](#) 11881..11953

/note="codons recognized: CUN"

/product="tRNA-Leu"

[gene](#) 11954..13792

/gene="ND5"

[CDS](#) 11954..13792

/gene="ND5"

/codon_start=1

/transl_table=[2](#)

/product="NADH dehydrogenase subunit 5"

/protein_id="[ND5_15836](#)"

/db_xref="GI:16357048"

/translation="MHSTTIIMTSSLLTIFTLLLYPLMTTLSPNPQENTWALTQVKTA
VKMAFLVSLIPLFLFLNEGAEVIITNWNWMNTATFDVNISLKFHDHYSIIFIPIALYVT
WSILEFASWYMHADPNMNQFFKYLLTFLVAMIILVSANNMFQLFIGWEGVGVGIMSFLLI

GWWYGRADANTAALQAVVYNRVGDIGLILAMAWMATNLNSWEMQQMFAASKDFDLTLP
LLGLILAATGKSAQFGLHPWLPSAMEGPTPVSALLHSSTMVVAGIFLLIRLSPLLENN
QTALTTCLCLGALTTLFTATCALTQNDIKKIVAFSTSSQLGLMMVTIGLNQPQLAFLH
ICTHAFFKAMFLFCSGSIIHSLNDEQDIRKMGGMHHLTPPTSSCLTIGSLALTGTPFL
AGFFSKDAIIEALNTSHLNAWALALTLLATSFTAVYSLRVVFFVSMGHPRFNPLSPIN

ENNPTVINPIKRLAWGSIVAGLLITSNITPLKTPVMTMPPLLKLSALIVTILGLIALL
ELASLTSKQFKPAPHLPLHHFSNMLGFFPMIIHRLAPKMNLILGQTMANQMIDQTWLE
KTGPKLTITANLPLITTSNTQQGMIKTYLTLFLLTLTLAALLFTP"

[gene](#) complement(13788..14309)
/gene="ND6"

[CDS](#) complement(13788..14309)
/gene="ND6"
/codon_start=1
/transl_table=[2](#)
/product="NADH dehydrogenase subunit 6"
/protein_id="[ND6_15836](#)"
/db_xref="GI:16357049"
/translation="MTYFMSLFLFGLVLGLIAVASNPSPYFAALGLVVVAGLGCGVLV
GHGGPFLSLVFLIYLGMLVVFAYSAAEAEPYPESWGSRSVMGYVVAYSVGVLLVS
GCFWGGWYEVSWVPADELKEFSMFRGDIGGVALMYSLGGGMLVISAWVLLLTLFVVLE
LTRGLSRGTLRAV"

[tRNA](#) complement(14310..14378)
/product="tRNA-Glu"

[gene](#) 14383..15523
/gene="CYTB"

[CDS](#) 14383..15523
/gene="CYTB"
/note="TAA stop codon is completed by the addition of 3' A
residues to the mRNA"
/codon_start=1
/transl_except=(pos:15523,aa:TERM)
/transl_table=[2](#)
/product="cytochrome b"
/protein_id="[CYTB_15836](#)"
/db_xref="GI:16357050"
/translation="MANLRKTHPLLKIANDALIDLPTSPNISTMWNFGSLLGLCLVSQ
ILTGLFLAMHYTSDIATAFSSVAHICRDVNYGWLIRNLHANGASVFFICIYMHIGRGL
YYGSYLYKETWNTGVVLLLLVMMTAFVGYVLPWGQMSFWGATVITNLLSAVPYVGNTL
VQWIWGGFSVDNATLTRFFAFHFLFPFVIAAMAMIIHLLFLHETGSNNPVGLNSDADKI
SFHPYCTYKDALGFTVLLVGLSSLALFSPNLLGDPDNFTPANPLVTPPHIKPEWYFLF
AYAILRSIPNKLGGVLALLASILVLMVIPFLHTSKQRGLTFRPLTRILFWTLVANVAI
LTWIGAMPVESPFIIIGQVASFLYFLLILVLSPLAAWAENKALRWT"

[tRNA](#) 15524..15595
/product="tRNA-Thr"

[tRNA](#) complement(15595..15664)

/product="tRNA-Pro"

[D-loop](#) 15665..16529

/note="control region"

BASE COUNT 4676 a 5085 c 2733 g 4035 t

ORIGIN

1 gctagcgtag ctttaataaa gcgtaacact gaagatgta agatgggccc tagtaagctc
61 cgcaggcaca aaggcttggc cctgacttta ctatcgactt taactagatt tacacatgca
121 agtatccgca cccctgtgag aatgccctca tctccctgcc cggggctgag gagccggcat
181 caggcgcact cgcagccca agacgccttg ttcagccaca cccccaaggg aactcagcag
241 tgataaacat tgagcataa gtgaaaactt gacttagtca aagttaagag ggccggtaaa
301 actcgtgccca gccaccgcg ttatcagagc gaccacaagct gatagtcacc ggcgtaaaga
361 gtggttagag gacagcccaa actaaagccg aacgccctca aagctgttat acgcatccga
421 aggtacgaag aacctcacg aaagtggctt tccccccac ccgaaccac gaaagctacg
481 taacaaactg ggattagata cccactatg cctagcccta aacatagata gtaacatact
541 ccactatccg cccgggaact acgagcatta gcttaaaacc caaaggactt ggcggtgctt
601 tagaccacc tagaggagcc tgcctagaa ccgataaacc ccgtcaacc tccccctt
661 ttgttttcc gcctatata ccaccgtct cagctacc tggaaggcc ctatagtaag
721 caaattggt aaaacccaaa acgtcaggtc gaggtgtagc gcatgggagg ggaagagatg
781 ggctacattc tctactacag agaactacga atgtattagt actgaaatat acaactgaag
841 gaggatttag cagtaagtgg aaaatagagc gttccactga aaccggccct gaagcgcgca
901 cacaccgccc gtactctct ccaagcttat tattctttat aactaaaaca gtaccattg
961 caaaggggag gcaagtcgta acatggtaag tgtaccggaa ggtgtactg gaaaaatcag
1021 ggtatagcta aacatagcaa agcgcctcac ttacaccgag aagacatccg tgcaaaccgg
1081 attaccctga cgccccacag ctagcccaca aaatccaacc aacaatcaa cataaatacc
1141 ccaaacacc ccaaactaa caacaaatc attttccct ctagtacgg gagacagaaa
1201 agagaattag gagcaataga aacagtaccg caaggaacg ctgaaagaga aatgaaacaa
1261 accattttaa gcccaaaaa gcagagattt aaactctac ctttgcac atgacttagc
1321 cagtactatt cgagcataga gtccttagt tgcaccccc gaaactagac gagctactcc
1381 aaggcagcct ataacaggc aaaccctct ctgtggcaa agagtgggaa gaactttgag
1441 tagaggtagc agacctaccg agtctagta tagctggtg ctaagaaat ggataaaagt
1501 tcagcccccc gtatttcca acccaacca gtcgtttact taagctggat atttaggctt
1561 agccgaggga gttattcgaa ggaggtacag ctctttgaa acaagacaca actttaccg
1621 gaggataaag atcataatta ccaaggaatc agtgctccag tggcctaaa agcagccacc
1681 tcaacagaaa gcgttaaagc tcagacacac ctaccaacc catattctga ttaatcatc
1741 aaaccctta atcctactag gccctccat gcaacatgg gagagaccct gctaatatga
1801 gtaacaagaa aattctagat ttctcctg cacaagtga catcggaac gacccccac
1861 cgaccctta cggcccaa tagaagagg tattgaataa taaaccataa aactagaaaa
1921 acattcaaat actagccgtt gaccacacac tggagtgcc acaaggaaag actaaagag
1981 aaaaaaggaa ctggcgaac acaagcctc cctgtttacc aaaaacatc cctttgcaa
2041 aacaaaatat aagaggctcc gcctgccctg tgactatag ttaacggcc gcggtattt

2101 gaccgtgcca aggtagcgca atcactgtgc ttttaaatga agaccggtat gaatggcata
2161 acgagggcct agctgtctct ttttccaag tcagtgaat tgatctccc gtgcagaagc
2221 ggggatacaa acataagacg agaagaccct atggagcttt agacacaaag cagcccaaat
2281 taagactcca aaattaaaac ggagcaataa aatgacaacc ctgctcaaat gtctttggtt
2341 ggggcgacca tggggaaaaa cgaaaccccc acgtggaacg gaagaacttc ttctacaacc
2401 aagagccgcc actccaagtg acagaatctc tgaccataaa tgatccggtc ctaccgatca
2461 acgaaccgag ttacctagg gataacagcg caatcccctt ccagagccca tatcgacaag
2521 ggggtttacg acctcgatgt tggatcagga catcctaagtg gtgcagccgc tattaagggt
2581 tcgtttgtc aacgattaaa gtctacgtg atctgagttc agaccggagt aatccaggtc
2641 agtttctatc tatgatatga tcttctcta gtacgaaagg accggaaaga aaaggcccat
2701 gctcgaggca cgccttacc ccacctaatg aaaacaacta aagtaggcaa gggggcatac
2761 cccctaagcc taagaacatg gcatgttaag gtggcagagc ctggacactg caaaagacct
2821 aagcccttc tacagaggtt caaatcctc ccttaactat gattcaacc cttaccacc
2881 acatcctaaa ccccttagcc ttcactgtcc ccgtacttct agccgttga tttctacc
2941 tactcgagcg aaaggtactg ggtacatac agctacgaaa ggggccaac gttgtcggcc
3001 cttacggact actccaacca atcgagatg gtgttaact ctcatcaaa gaaccagtcc
3061 gaccgtccac ctctcccc gtctatctt tagtcacccc tatattagcc ttaaccctcg
3121 ccctaactct ctgagcccc atgcctctcc cctaccccgt cattgacctc aacctaggaa
3181 tcttattat cctcgccta tctagtctag ccgttactc catcctgggc tcaggatggg
3241 cgtcaaattc caaatatgct ctaatagggg ccctccgagc cgctgcccac accatctct
3301 atgaggaag cctaggacta attctttaa acattattat ttcacggga ggctttacac
3361 tccaaacct taacgttgcc caagaaagca tctgactaat ccttctgca tgaccctag
3421 ccgcaatag atacatctca accctagcag aaacaaaccg ggccccctc gatcttaccg
3481 aaggcgaatc agaactagtt tctggctca atgtagaata tgcaggagga ccctcgccc
3541 tcttctctc cgctgagtac gtaacatcc tctcataaa tacactatcc gccaccctat
3601 tcctaggcgc ctctcacatt cccacaatcc cagaactaac agcaatgaac ctaataacca
3661 aagccgcct cctctcagtc gtcttctgt gactacgggc ctctacccc cgattccgat
3721 acgaccaact aatgcacctc atctgaaaa acttctctcc cctaacacta gccttagtaa
3781 ttgacacct agcacttccc atcgactcg caggcctgcc cccacaactg taataccag
3841 gagttgtgcc tgaatttaaa ggccacttt galagagtga atcatgaggg ttaaaatccc
3901 cccagctct tagaaaaaag ggactcgaac ccgtcctaa gagatcaaaa ctcttggtgc
3961 ttccactaca ccacttcta gtaaatcag ctaattaagc ttttgggcc ataccctaaa
4021 catgttggtt aaaatcttc ttactaat gaaccgtac attctcgcca ccttttatt
4081 cggcctaggc cttggaacca ctattacatt tgcaagtcc cactgactac ttgcctggat
4141 aggactgaa ataacaccc tagctatcat cccctaata gcccaacacc accacccccg
4201 agcagttgaa gctaccacaa aatattcct cacacaagcc actgccgctg ccataatct
4261 cttgctagc accactaacg cctgactcac cggacaatgg gacatcaac aaatctgca
4321 cccctacc atcaccatta tcagctggc cctggcactt aaaatcgcc tggccccggt
4381 ccactcatg ctgcccgaag tcttcaagg gttagacct accaccgggc tgatctatc
4441 cacctggcaa aaactagccc ctttgcct acttctaaa attcagccc ccaacccac

4501 aaccataatt gccctgggac ttatatctac cctggtaggg ggctgagggg gccttaacca
4561 aactcaactc cgaaaaatcc tggcctactc ctccattgcc cacctcggat gaataatct
4621 aattatccaa tttaatccct cctcaccct cctggccctc cttacatact tcatcatgac
4681 attctccaca ttctgggtgt tcaactaaa caactcaacc aacatcaaca ccctggccac
4741 atcatgagct aaaagcccg ccttgactgc tctgatacct ctgtcctac tactactagg
4801 gggccttccc ccaataaccg gattcgcacc aaagtggcta atctccaag aactagctaa
4861 acaagggctc gctccacag ctacattagc cgccctaaca gccctccta gctgtactt
4921 ctacctacgc ctatctacg ccataaccct taccatgtcc cccaacaact taaccaatac
4981 aatgccctga cgctcccc tactccaaca caccatgcca ctagtctat caacaatagc
5041 gacaatctct ttactcccc taacccccg cgctaccgcc ctgctaacc cctaagggg
5101 ttaggatagc actcagacc aagggcctc aaagccctaa gcgggagtga gaatctcca
5161 gccctgata agacttgac gactttatcc cacatctct atatgcaaaa cagacactt
5221 aattaagcta aagccttact agatgagaag gcctgatcc tacaagatct tagttaacag
5281 ctaagcgccc aaaccagca gcatctatct actttcccg ccgcccgtag accagggcgg
5341 aaaagccccg gcagacggtt agtctgctc ctacagattg caatctgata tgataacacc
5401 ccagggcttg ataaggagag gactcaaacc tctgtctatg gggctacaat ccaccgcta
5461 cctcagccac ctacctgtg gcaatcacac gctgatttt ctcaaccaac cacaagaca
5521 ttggcaccct ttatctagta ttgggtcct gagccggaat agtcggcacc gccttaagcc
5581 tttgatccg agcagagcta agccagccgg gggccctct gggagatgac cagatctaca
5641 atgtcattgt taccgcacac gcctttgtaa taatttctt tatagtaata ccaattatga
5701 ttggaggatt tggaaactga ctaatcccc taatgatcgg agccccgac atggcattcc
5761 ctgcaatgaa taatatgagc ttctgactc tccctcctc ctctcctt ctctagcct
5821 cttctgggtt agaagcaggg gcagggaccg gatgaactgt gtaccaccc ctgcccggaa
5881 acctgcaca cgaggggccc tcagtgacc taacaatct ctctacat ctggcgggtg
5941 tctctctat tctaggggcc attaacttta ttacaactat catcaacatg aaacccccag
6001 ccatttcaca ataccaaca cccctgttcg tctgagcggg gctcattaca gcagttctc
6061 ttctctctc cctgcccga ctgcccag gtaacacat actactaca gatcgcaacc
6121 taaatacaac ctctttgac cccgcccggag gagtgacc aattctctac caacacat
6181 tctgattctt tggccatcca gaagtctaca ttctattct cccgggttc ggaataatt
6241 cacacatctg cgctactac tccggtaaaa aagaaccctt tggctatag ggaatagat
6301 gagccatgat ggccatcggc ctgctagggt ttattgatg agcccaccac atgtttacag
6361 tcggtataga cgtagacaca cgacatact ttacatcagc caccatgatt attgccattc
6421 caacaggggt aaaagtctt agctgactc ccacattaca cggcggatca attaatgag
6481 aaacccccact cctatgagcc ctgggttca tttctatt tacggtaggg gggctcacag
6541 gcatgtctct agccaactct tcattagaca tctactcca tgacacctac tatgtagtag
6601 cccacttcca ctatgtctc tctatggggg ccgtgtcgc cattgtagcc gcctttgat
6661 actgattccc cctattcaca ggatacacac tccacgacac atgaactaaa atccacttg
6721 cagttatgtt ctggggcgtc aacctacat tctcccca acactctt ggcctgacg
6781 gcatgcctcg acggtactca gactaccccg acgctacac cctatgaaat actgtctct
6841 caataggatc actagtctct ctagtggcag taatcatggt cctatttatt atctgagaag

6901 cctttgctgc caaacgggaa gttctatcag tagaactaac cgcaaccaac gtagagtac
6961 tacacggttg cctccacca taccacacat tcgaggagcc tgccttcgta ctagtacaag
7021 cagactaacg agaaggaag gaattgaacc cccatttatt ggtttcaagc caatcgata
7081 accactctgc cactttcttt ataagacact agtaaaacgg atattacact gctttgtcaa
7141 ggagatttg tgggtgaac cccgcggtgt ctaagcact agctagaatg gcacatccct
7201 cacaactagg attccaagac gcgccctccc ccggtataga agaacttctc cactttcacg
7261 accagccct aataattgta ttctaataca gcacactagt gctttacatt attgtggcta
7321 tagtctccac caaattaact aacaagtca ttttagactc ccaagaaatc gaaattatct
7381 gaacagtact accagcagtg attcttattt taattgccct cccctcactt cggatccttt
7441 acctcatgga cgaaattaac gaccacacac taacaattaa agcgatagga caccaatgat
7501 actgaagcta tgagtacaca gattatgaag acctggcctt tgactcatac ataatcccca
7561 cccaagacct tgccccggc caattccgcc tattagaagc agatcatcga atagtattc
7621 cagttgaatc cccattcgt attctgtct cagctgaaga tgccttcac tcatgagcag
7681 tccctgcat ggggtgaaaa atggacgag tcccaggtcg tctaaacca acagccttta
7741 ttgctcacg acccggcgta ttctacggcc aatgctctga aattgcgga gcaaaccaca
7801 gctttatacc tatcgtagt gaagcagtc ctctagaaca ctttgaggac tgatctctct
7861 taatactca agacgcctca ctaagaagct aatcgggca taagcgttag cctttaagc
7921 taaagactgg tgatcccaa cccccctag tgacatgcc caactcaacc ccgccccctg
7981 attgccatc ctaatcttt catgactaat ctctcaaca ttcttcccc ccaaagtct
8041 agccacacc ttcccaatg agctcacaac acaaagcaca gaaagcccca acacacaagc
8101 ctgaaactga ccatgatct aagcttcttt gaccaattca tgagccccac atacctagga
8161 atcccgtaa tcgccctggc ccttagcctt ccatgaatct tataccccgc cctacaagc
8221 cgatgactaa acaaccgact attggcctt caaggctgat tcatcaaccg attcactca
8281 caactgctgc tcccaatgag cctcggagga cataaatgag ctgctcttt tacatctct
8341 atactttct taatccctt taacatgctt ggctcctgc catatacctt taccctaca
8401 acacaactct cctaaacat aggacttga gtacccttt gactcgaac cgttatcatt
8461 gggatacgaa atcaacctac acatgcccta ggacacctt taccagaagg aacaccaacc
8521 ctctaattc cagttctat tatcatcgag acgatcagcc tgttcattcg acctctgcc
8581 ctggagttc gactcacagc caactaaca gcgggccatc ttctattca actaatgcc
8641 actgccaccg ccgtctagc cctcttatg cccactgtag ccattctcac aggcaccctc
8701 ctcttattac tcacctctc agaagtcgcc gttgctatga tccaagccta tgtcttcgta
8761 ctattactaa gcctctacct acaagaaaac gtctaatggc ccaccaagca cacgcatatc
8821 acatagttga cccagccct tgaccctca caggcgaat tgccgctctc ctaataacat
8881 ccgacttgc tatttgattt cacttccact ccacaaccct tataacacta ggactagtac
8941 tgctctatt aactatgtac caatgatgac gagatatcat ccgagaagga acctccaag
9001 gacaccatac gcccccgct caaaaaggtc tccgatacgg aatggctctt ttattacat
9061 cagaagttt ctctttcta ggattttct gagctttcta ccacgcaagt ctgccccca
9121 cccctgaact agcggctgc tgacccccaa cagggattat taccttagac ccggtcgaag
9181 tccccctact aaacacggcc gtcttttag cctccggtgt aacagtcaca tgagcccacc
9241 acagcatcat agaagggtgaa cgaaaacaag caatccactc cctaggcctg acaattctcc

9301 taggcttcta cttfaccttc ctcaagcta tagaatatta tgaagcccc tcacaatcg
9361 ccgacggagt ttacggctcc actttctcg tagcaacagg gttccacgga cttcacgtaa
9421 tcacggctc aaccttcta gccgtatgc ttatccgca aatccaatac cattttacat
9481 ctgaacacca cttcggcttt gaagcggccg cctgatactg acactttgta gatgctgat
9541 gactattcct ttatatctcc attactgat gaggatcta atctttctag tattaagct
9601 agtataagtg acttcaatc acccggctt ggtaaacc caaggaaaga taatgaacct
9661 tgcctaaca atcattaca tcactgccct cctctctcc gtctggccc tctctcct
9721 ctgactccct cagatgacct cggactatga aaagctctcc ccctacgaat gcggcttga
9781 cccgcttggc tccgacgac tcccctctc cctgctgattc ttctaactc cactctct
9841 cctcctttt gatctgaaa ttgccctct cctctctct ccttgaggag accagctagt
9901 ctcaccctc tacacattta ttgagcaac cgccgtccta atactctaa ccctcggact
9961 aatttatgaa tgaacccaag gaggactaga gtgagccgaa taggtggtta gtctaagaaa
10021 aaacatttgg ttccggctca aaaatttgg gtttaagtcc ataactacct aatgacctc
10081 gttcactct cttctcctc agccttctc ctaggactag taggcctagc attccaccga
10141 accaccttc tctctgccct ccttgccta gaaggcataa tactctcact ttacattgcc
10201 ctctccctat gggccctca actagatgcc acaggctatt cagctctcc tatactcta
10261 ctggcattct cagcatgtga ggcagcgca gggctgccc tactagtgc aactgcacga
10321 accacggaa ccgaccgct acaagcctt aacctctac aatgctaaa attctaactc
10381 caacactcat gctagtccc accactgac taacccagc caaatgactc tgacctaca
10441 ccctgggcca aagcctagta attgactaa ttgacctac ctggctgggc cactgtcag
10501 aaacaggctg atccacacta aacacattca tagcaactga cccctctca acacctcc
10561 tctcctaac ctgctgactc ctcccctga taattctgc cagccagaac cacataacc
10621 cagaaccca aaaccgca cgaatataca tctcctctt aacctccta caagtattc
10681 taatttagc ctttgggcc acagagatta ttatattta cgttatattc gaggccacc
10741 tgatccccac ctaatcatt atactcggg gggtaacca aactgaacgc ctcaatcgg
10801 gcacatactt tttatttat accctggccg ggtccctgcc cttttagta gcctctct
10861 tactacaaa cgacacaggc acccttcaa tactaacct ccaatcggc aaacctcc
10921 agtaacatc ctatgcagc aaactatgat gagcaggctg cttctggct ttctagta
10981 aatgcccct atacggagta cacctgac ttctaaagc acagttgaa gctcccattg
11041 ccgatcaat agttcttgc gccgtactc taaaactagg aggctatgc atgatcgaa
11101 taatgattat actcgaccc ctaaccaaag aattaagcta cccctcact atcttgcac
11161 tctgaggcat tatcataact ggtccatct gctacgcca aacagaccta aaacctca
11221 ttgcctactc atcagtcagc cacataggcc tagttgagg aggcattta atccaaacc
11281 cctgaggctt taccggcgt ctaatccta tgatgcaca cgggctgca tcacccgac
11341 tattctgtct tgccaact aactatgaac gaacctatag ccggaccata gtctagctc
11401 gaggctaca aatagctct cccctaata ctacttgatg attattgct agcctagta
11461 acctagcact cccaccactc ccaacctca tgggggaact aataatcatt acctcctat
11521 tcaactgatc ctgatgaacc ctctcctca caggactgg aacttaatt accgctggct
11581 actccctcta catattccta ataaccaac ggggcccct accaacgcat attatcctc
11641 tagaccctc tcaactcga gaacatctc tcatggcct acacctcatt ccctaattc

11701 tactaattat gaagcccgaa ctaatctgag gttgaaccgc ctgtagacat agtttaaaca
11761 aaacgttaga ttgtgattct agaaacggag gttaaagccc tctgtccac cgagagaggc
11821 atgcgacgag caaggactgc taatcctcgc caccttggtt aaaaatccatg gctcactcgc
11881 gtcctaaag gataacagct catccgttgg tcttaggaac caaaaactct tggtgcaaat
11941 ccaagtagca gctatgact ctaccacat catcatgact tcaagtctat taaccatftt
12001 tacactactc ctttaccccc ttataacaac cctcagccca aaccacaag aaaacacctg
12061 ggcctaact caagtaaaaa cagcagtaaa aatggccttc ctagtaagcc tcatccccct
12121 cttcctattc ctaatgaag gcgcagaagt aattattacc aattgaaact gaataaacac
12181 cgctaccttt gacgtcaaca ttagcctaaa attcgaccac tactcaatca tctttatccc
12241 aattgcctc tatgtaacct ggtctatcct agaattgca tcatgataca tgcacgcaga
12301 tcccaacata aaccagttct taaatacct cctcaccttt ctagtagcca taatcatcct
12361 agtatctgcc aacaacatgt tccaactttt cattggctga gaagggtgag gaatcatatc
12421 cttcctccta attggctggt gatacggacg ggcagacgcc aacaccgccg ccctacaggc
12481 ggtcgtgtac aaccgagtcg gagacatcgg actaatcctg gctatagcat gaatagccac
12541 aaacctaacc tcatgagaaa tgcaacaaat attgcccgc tccaaagact ttgacctac
12601 cttcacta ctcggcctaa tcttctcgc caccggcaaa tcagctcaat tcggactaca
12661 ccctgactg ccctctgcaa tggagggtcc tacgccggtc tctgccctac ttactccag
12721 caccatggtc gtcgctgaa ttttctact aatccgcctc agccccctt tagaaaaca
12781 tcaaaccgcc ctaacaactt gcttatgcct cggggcctc acaaccctat ttacagccac
12841 ctgcccctt acccaaacg atatacaaaa aatcgttga ttctcaacct cgagccagct
12901 gggcctaag atggttaaaa ttgactaaa ccaaccccaa ctagccttc tccatatctg
12961 caccacgct ttctcaag ctatactatt cctctctcc ggtccatta tccacagcct
13021 aaacgacgaa caagacatcc gcaaatagg aggtatacat cacctcacc ctaccacctc
13081 atcctgcctc acaatcggca gccttgact aacagggacc cctttctcg cagggttctt
13141 ctcaaaagac gccatcattg aggcctaaa cacatccac cttaacgct gagccctcgc
13201 cctcaccta ctgccactt cttcactgc tgtctatagc ctacgtgtg tcttcttgt
13261 gtccatgggc caccctcgt tcaaccact ttccccatc aacgagaaca acccaacagt
13321 aattaacccc atcaaacgcc tagcgtgagg tagcattgtt gccggcttac taatcacctc
13381 aatattaca cccctaaaa ccccgtaat aaccatacca cccctcctaa aactcagcgc
13441 cctgatcgtt acaatcctag gactcattat cgactagaa ctgcctcct taacaagcaa
13501 acaattcaaa cccgcccc acttgcccct ccaccactc tccaatata taggcttctt
13561 tcctataatc attcatgcc tagcccctaa aataaacctc atcctgggc aaacaatggc
13621 caaccaata atgaccaaa catgattaga aaaaacagga ccaaaaacct tgatcaccgc
13681 caatctccc ctaacta caacaagtaa taccaacaa ggtataatta aaacctact
13741 taccctattc ctgctcacc taaccctggc cgcctgctc ttacccccct aaccgcccga
13801 agcgttccc gactcagacc gcgcgttaac tctaaaacca caaataaagt aagaagtaaa
13861 acccaagcac taataactaa catcctccc cctaaagagt atattaatgc aactcctca
13921 atgtcccc gaaacataga aaactctta agtcatcag ccggaacca agaaactca
13981 tatgcccc ctcaaaagca accagatacc agtagaacc caacagagta ggccacaaca
14041 taccatga ccgaacgact cctcaactt tccgggtaag gctcagcagc taaagtgc

14101 gaatacgc aa atactaccaa cattccccct aagtaaatta aaaataaacac caaagacaag
14161 aagggcccc catgaccac caacaccca cacccaatc ccgtactac taccaacct
14221 aaagcagcaa aataagggga aggattagac gcaaccgca taagcccaa cacaagccc
14281 aataaaaaca aagacataaa ataagtcata attcctacc ggacttaac caggactagc
14341 gactgaaaa accaccgta tttttaact ataagaacc taatggcaa cctccgaaa
14401 actaccccc tcataaaaat cgcaaacgac gcactaattg acctcccccac ccctccaac
14461 atctcaacca tggaaactt tgggtcactc ctaggcctct gtttagtaag ccaaactc
14521 acaggactct tcctagccat aactacacc tccgacatcg ctaccgctt ccatcagta
14581 gccacatct gccgagatgt aaactacgga tgactaatcc gaaacctaca tgccaacgga
14641 gcatctgtct tctcatctg catctacata cacatcggcc gaggactata ctacggctcc
14701 tacctatata aagaaacctg aaacaccgga gtagctctac tcctactagt aataataacc
14761 gcttctgtag gctacgtact tccatgagga caaatgtcct tctgaggtgc cactgtaatt
14821 actaacctcc tgcgcgctt tcctacgta ggaaacacc tagtccaatg gatctgagc
14881 ggatttctg tgacaacgc caccctaacc cgattcttg cctccactt ttattccc
14941 tttgtcattg cagctatagc aataattcac ctttattcc tcatgagac aggtcaaac
15001 aaccagctg gcctcaactc agatgcagac aaaatttct tccaccata ctgcactac
15061 aaagacgcc ttgatttac cgtcctacta gttggcctc cctcctagc actctttcc
15121 ccaacctac ttggagacc agataattt acccctgcca acccctagt cacacccca
15181 catattaaac ctgagtgata ctcttattc gcctacgcca tcctacgatc catcccaat
15241 aaactgggag gagtcctagc cctcttagc tctatcctg tcctaatgtt catcccctc
15301 ctccacctc caaacaacg aggactaaca ttccgacct taaccggaat cctattctga
15361 acctagttg caaacgttc cattctacc tgaatcggg caatacctgt agaatcccc
15421 ttattatca tcggacaagt agcatcttc ctactctc tgctaactc agttctctc
15481 cctctagcag cgtgggcaga aaacaaagcc ctctgatgaa catgcctag tagctcagt
15541 tcagagcacc ggtctgtaa accggacgc ggaggtaaa ctctcccta gtgctcagag
15601 aaagaagatt ttaactcca cccctaactc ccaagctag gattctaac taaactattc
15661 tctgccccc agccgcccc acatatatg ctagaaagc tagtatagac atatatgat
15721 tatcaccatg aatcgaattt aaccatttc aatggctc cggtacata atgtagtccc
15781 attgttctg gaattaaac actcacacat caatacaat acaaggtgt acataagca
15841 atactggaat aaccaacaaa ttaactaatt cacgtgacag ccgacattt agaccgaaca
15901 caactcgcg cgggtgagtt ataccatgca ctcaacctc cgtaactct cagattctca
15961 agttagtaaa gaaaccacca tcagttgatt cctaatgca tatcatgct gatggcagg
16021 gacaaaactc gtgggggtt cacttagtga tctattctt gcattgggt cctattcag
16081 gaacatatat cgataactat cctcccctc aatgaattt gccagacata agttattgt
16141 ggagtacata ttaccctta cccacatcg cgttaaaact aaaggcatt tggttcttt
16201 ttttgggtt ctttcaact tgcattcac agtcataca gaaatgacat ctaagggtg
16261 tacattctt tgcgcgcaag gaaatagat ccatgggaa aagtcattct ataaagaatt
16321 gcatactgg atatcaagag cataaagat tagtattact cctatatat ctaagattac
16381 cccccgttt acgcgctaa acccccctac ccccaacac cctgagatc gctattattc
16441 ctgaaaacc cccggaacaa ggaaaacct tagtgggtt ttaccatcc aaattgtgt

16501 tatttacatt aattaaata tttgcata

//

Revised: October 24, 2001.