

Analyse génétique des 5 échantillons de truites de Corse Ultimi, Asinao, Castagnu, Tassineta et Maghjine

Projet OEC2012
Rapport de décembre 2012



Tassineta © <http://www.uniterre.com/>

Analyses statistiques, interprétation, rédaction: **Patrick Berrebi**
Analyses moléculaires: **Zhaojun Shao**

* Institut des Sciences de l'Evolution, UMR5554 UM2/CNRS/IRD, Université Montpellier 2, CC065,
place E. Bataillon, 34095 Montpellier cedex, tel: 04 67 14 37 32,
patrick.berrebi@univ-montp2.fr
zhjshao@gmail.com



1. Introduction

Le présent rapport concerne la campagne 2012 d'échantillonnage et de caractérisation génétique des truites de Corse sous l'égide de l'Office de l'Environnement de Corse (OEC).

La campagne d'échantillonnage et d'analyses de 2012 (5 échantillons) est la seconde de l'étude commandée par l'Office de l'Environnement de Corse par l'attribution à l'ISEM d'un marché public de services - prestation intellectuelle - ayant pour objet la réalisation d'analyses génétiques de truites sur 10 sites. Le but est de rechercher de nouvelles populations de truites ancestrales corses (marché 14- 2011/205 sur 3 ans: du 07/06/11 au 06/06/14). Ce marché est complémentaire de la convention OEC-Fédération qui précise que l'OEC finance le laboratoire et la Fédération assure les pêches.

Ces travaux caractérisés par l'emploi de 6 marqueurs microsatellites (en non plus 4) se font dans la continuité du Life Macrostigma qui avait concerné l'analyse génétique de 61 échantillons constitués entre 2004 et 2007 dont 16 analysés avec les même 6 marqueurs et donc statistiquement compatibles.

2. Echantillonnage

Pour la campagne 2012, 5 échantillons d'environ 20 truites ont été programmés. Ces 101 truites sont parvenues à l'ISEM le 24 septembre 2012.

n° OEC	date	rivière	bassin	Nbre	n° terrain	n° ISEM
OEC24	11/06/12	Ultimi	Chabbia	20	2012-OEC24-01 à 20	T23250 à T23269
OEC25	29/06/12	Asinao	Travu	21	2012-OEC25-01 à 21	T23270 à T23290
OEC26	11/07/12	Castagnu	Gravone	20	2012-OEC26-01 à 20	T23291 à T23310
OEC27	19/07/12	Tassineta	Asco/Golu	19	2012-OEC27-01 à 19	T23311 à T23329
OEC28	18/09/12	Maghjine	Fangu	21	2012-OEC28-01 à 21	T23330 à T23350

Tableau 1 : Liste et caractéristiques des échantillons de la campagne 2012.

3. Méthode moléculaire

Cet échantillonnage a été analysé au niveau de 6 locus microsatellites Oneµ9, Mst85, Ss0SL-311, Omy21DIAS, MST 543 et Sf01.

Pour cela, les échantillons de nageoire sont traités à la protéinase K (destruction des tissus et libération de l'ADN) et au Chelex (élimination des enzymes et inhibiteurs qui détruiraient l'ADN ou empêcheraient la PCR).

Les PCR (amplifications artificielles à l'identique d'une courte partie de l'ADN) se font en thermocycleur et les produits amplifiés sont mis à migrer dans des gels d'acrylamide dénaturant (brins d'ADN séparés les uns des autres).

Les migrations sont scannées (scanner FMBIO II) grâce aux radicaux fluorescents des amorces et interprétés en terme de génotypes avec l'aide d'un analyseur d'image FMBIO IMAGER 8. La matrice de génotypes obtenue est la base de tous les calculs statistiques.

4. Méthode statistiques

La matrice des données génotypiques additionnée des génotypes de référence d'origine connue dont des échantillon ancestraux corses, méditerranéens de Corse et domestiques atlantiques, sert de base aux calculs.

Dans le but de caractériser les 5 nouveaux échantillons OEC 24 à 28, deux méthodes complémentaires sont employées:

- Une méthode plutôt qualitative est l'**analyse multidimensionnelle** (ici l'AFC). Elle permet de visualiser chaque truite dans un hyper-espace qui favorise le regroupement des truites génétiquement semblables et sépare celles qui sont dissemblables. Il s'agit d'un défrichage des résultats.

- Une méthode plutôt quantitative consiste à rechercher les meilleurs regroupements de truites (**assignation**) au moyen du logiciel STRUCTURE. Le nombre de partitions testées (k) doit aboutir à la définition des lignées génétiques différenciées. Ces assignations permettent de proposer des pourcentages, pour chaque échantillon, des k types génétiques reconnus.

Ici le test a consisté en 60000 essais de *burnin* (mise en chauffe du test afin de perdre la structure en échantillons) et 160000 itérations (tâtonnements successifs permettant d'arriver au meilleur découpage en k sous-unités présentant des caractéristiques statistiques propres à des populations en équilibre).

5. Résultats

5.1 - Analyse multidimensionnelle

L'analyse multidimensionnelle (AFC) présentée en Figure 1 positionne les 5 échantillons de la campagne OEC2012 (voir tableau 1) dans un "fond de carte" localisant les types atlantique domestique, méditerranéen et corses (deux grandes sous-unités: le "Prunelli-Fium'orbu" et "Taravu", ce dernier présentant les types Veraculongu et Chiova).

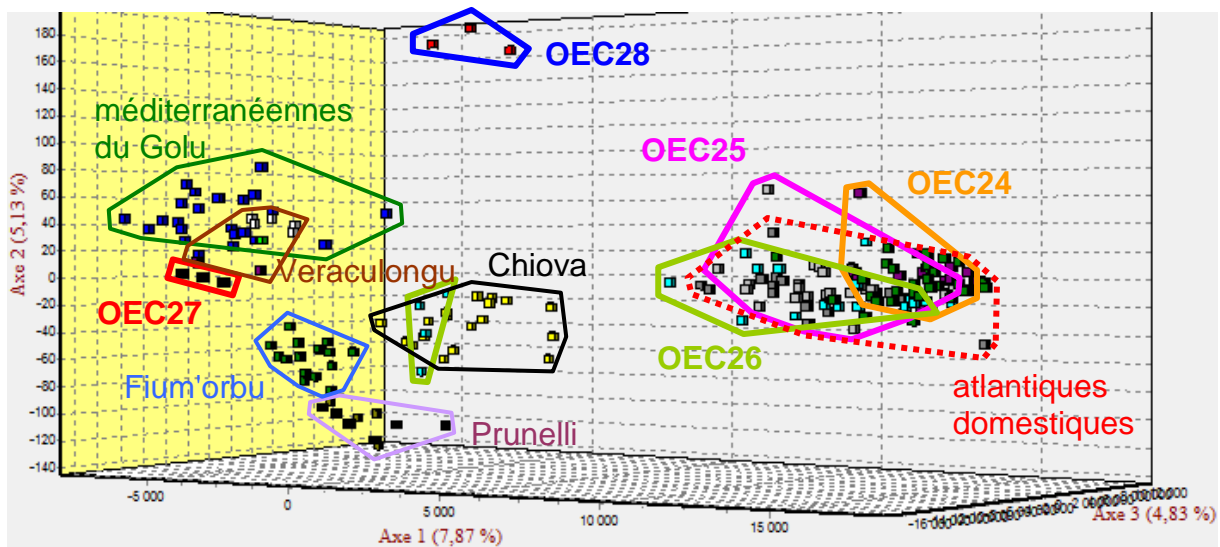


Figure 1 : Caractérisation par analyse multidimensionnelle des 5 échantillons de la campagne OEC2012 par rapport à des échantillons de référence atlantique, méditerranéen et corses.

La projection de l'AFC présentée en Figure 1 ne permet pas de séparer correctement les lignées méditerranéenne et corse-Veraculongu (elles se distinguent sur un axe non représenté, au delà de l'axe 3). La Figure 2 résout cette question en limitant le nombre d'entités génétiques représentées. Chaque échantillon apparaît alors bien distinct.

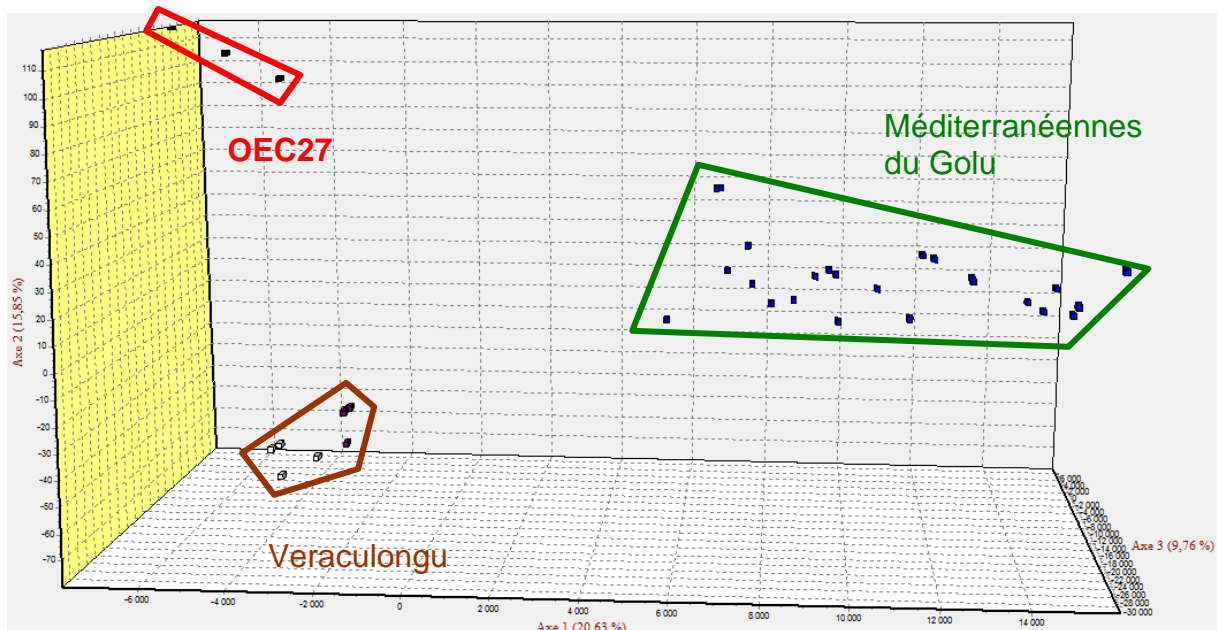


Figure 2 : Meilleur positionnement de l'échantillon OEC27 dans cette AFC n'utilisant que deux échantillons de référence. L'axe 1 étant le plus informatif, cet échantillon est distinct des deux références. L'analyse d'assignation devra trancher.

5.2 - Analyse d'assignation

station	repère	C1	C2	M	A1	A2	Nbre
Chiova	1994	89	2	1	5	3	18
Golu	1996	1	1	96	1	0	24
Veraculongu	1996	0	98	1	0	0	18
Ortolo	1996	1	1	1	82	15	17
Ese	Life 03	1	98	1	0	0	20
Pozzi	Life 14	2	97	1	0	0	20
Marmanu	Life 41	1	98	1	1	1	20
Sant'Antone	Life 47	0	91	1	2	5	12
Cavichja	Life 50	1	4	2	88	5	19
Ninu	OEC19	5	1	94	1	1	20
Agnellu	OEC20	1	4	1	2	92	20
Manica	OEC21	98	1	1	0	0	20
Padulelli	OEC22	1	1	1	91	6	20
U Furcone	OEC23	93	0	0	1	6	20
Ultimi	OEC24	0	0	0	1	98	20
Asinao	OEC25	1	1	1	95	2	21
Castagnu	OEC26	20	1	1	78	1	20
Tassineta	OEC27	0	1	99	0	0	19
Maghjine	OEC28	0	98	0	1	0	21
Domestiques	2008	1	1	1	17	81	119

Tableau 2 : Estimation de la proportion de chacun des 5 types génétiques reconnus dans les 5 stations de 2012 (en jaune), celles de 2011 (en bleu) et les références (en gris).

Cette analyse consiste, par tâtonnement progressif, à proposer le meilleur découpage en k sous-unités ressemblant à des populations à l'équilibre génétique. Ici le meilleur découpage aboutit à $k=5$, avec deux types corses : C1 = corses du nord (Manica) et C2 = corses du sud (Prunelli), le type méditerranéen et deux types domestiques (A1 ancien et A2 actuel).

Une analyse plus détaillée de ces résultats est disponible en Annexe.

6. Interprétation et discussion

Cette nouvelle série de résultats ne révolutionne pas la structure connue des peuplements de truites corses. Si ces résultats sont comparés avec ceux de la série OEC2011 (Tableau 2, lignes en bleu):

- une population seulement est purement corse ancestrale (Maghjine) d'un type appelé ici C2 ou Corse du sud, du fait de sa similitude avec le type Prunelli. Nous n'avons pas trouvé ce type en 2011.

- Une population est purement méditerranéenne (Tassinetta) et proche donc le l'échantillon du Ninu de 2011.

Les trois autres échantillons de 2012 appartiennent à des populations majoritairement ou totalement atlantiques donc domestiques:

- Ultimi est purement atlantique récent, puisque du type des souches domestiques atlantiques continentales actuelles.

- L'échantillon d'Asinao est purement (95%) de type A1;

- Castagnu est à 78% de type atlantique A1 (ou ancien); les 20% de présence corse représentent 3 truites purement corses. Cela s'explique par l'implantation de truites de type corse (Prunelli) du Calderamolla et restées pures dans une zone isolée de l'amont du cours d'eau qui a été rapidement visitée lors de la pêche (S. Muracciole, comm.perso).

- L'échantillon d'Asinao est purement (95%) A1.

Les échantillons de 2011 ont été ré-analysés en 2012 dans un contexte différent: différentes références, présence des échantillons de 2012. Ce changement d'environnement statistique met à l'épreuve les résultats fournis dans le rapport précédant (Berrebi & Shao, 2011). Si nous comparons les résultats d'assignation du tableau 2 du présent rapport avec celles du Tableau 2 équivalent du rapport de 2011, nous retrouvons globalement les mêmes résultats et quasiment les même pourcentages d'assignation. Le type C de 2011 correspond au type C1 du présent rapport et les types P1 et P2 aux types A1 et A2.

La seule différence est que les calculs de 2011 avaient individualisé le type U Furcone tandis que la présente analyse rapproche cette population de type C1 comme pour la Manica.

7. Conclusion sur les études 2011 et 2012

Les analyses génétiques qui ont constitué l'objet de la convention 2011-2014 (marché 14-2011/205 sur 3 ans: du 07/06/11 au 06/06/14) sont toutes résumées dans le tableau 2: les 5 échantillons en bleu ont été analysés en 2011, les échantillons en jaune ont été analysés cette année 2012 (la durée de 36 mois de la convention correspond à une précaution administrative).

Le choix des stations n'a pas été aléatoire: de nombreuses zones ont déjà été analysées depuis les premières études du laboratoire de Montpellier en 1993. Il est clair que les stations de cette étude et les futures stations rencontreront de plus en plus de populations modifiées, une question importante étant de décrire l'étendue amont-aval de la zone à truites sauvages.

Un des enseignements particulier de cette étude 2011-2012 est le tout-ou-rien génétique observé: il est surprenant de trouver des populations proches du tout-corse, du tout-méditerranéen ou du tout-domestique. Parmi les 10 stations du tableau 2, une seule est mitigée (Castagnu) mais nous savons qu'il s'agit d'une introduction récente.

En résumé, les 10 stations analysées ont révélé 3 populations purement corses ancestrales, 2 stations purement méditerranéennes et 6 stations purement domestiques (si on inclut Castagnu).

Ces résultats sont décisifs pour le choix d'une gestion à dominante patrimoniale adaptée à chaque cas.

Fait à Montpellier le 12 décembre 2012

8. Références bibliographiques

- ¹ **Berrebi P. 1995.** Etude génétique des truites de Corse, rapport final 1995. Rapport de contrat Parc Naturel Régional de Corse, novembre 1995, 36p. + annexes.
- ² **Berrebi P. 1996.** Analyses allozymiques des truites corses dans le cadre du protocole n°1165 du CSP (8° délégation) : Etude de deux cours d'eau corses dévastés par les crues : la Solenzara et l'Ortolo. Suivi de la recolonisation par les populations de truite. Rapport décembre 1996, Université Montpellier II.
- ³ **Berrebi P. 1998.** Structuration génétique des truites de Corse - Rapport 1998. Rapport de contrat, Université Montpellier II, 11p. + annexes.
- ⁴ **Berrebi P., Dubois S. 2007.** LIFE Nature "macrostigma" - Rapport final n°10 - Juillet 2007 - Synthèse de trois années d'analyses, 9p. Université Montpellier 2.
- ⁵ **Berrebi P., Dubois S., Recorbet B., Muracciole S., Mattei J. 2007.** Les progrès en génétique obtenus lors du LIFE. In : Guide de gestion de la truite macrostigma, 52-60.
- ⁶ **Berrebi P., Cherbonnel C. 2009.** Cartographie génétique des populations sauvages de truites françaises - Programme GENESALM, tome 1. 22p.
- ⁷ **Berrebi P., Cherbonnel C., Muracciole S., Recorbet B. 2009.** Rapport intermédiaire OEC1 (3 décembre 2009) - Etude génétique de 18 échantillons 20 truites de Corse sur 4 marqueurs microsatellites. Université Montpellier 2.
- ⁸ **Berrebi P., Cherbonnel C. 2011.** Etude génétique de 18 échantillons de truites de Corse sur 4 marqueurs microsatellites. Rapport final. Mars 2011, 16p. Université Montpellier 2.
- ⁹ **Berrebi P., Shao Z. 2011.** Description génétique de cinq populations de truites corses basée sur six locus microsatellites - décembre 2011, 10p. Marché OEC2011, Université Montpellier 2.

Annexe : Mise en perspective des résultats OEC2012 avec ceux de OEC2011, mais aussi de différents types rencontrés dans le passé, y compris des résultats basés sur des allozymes.

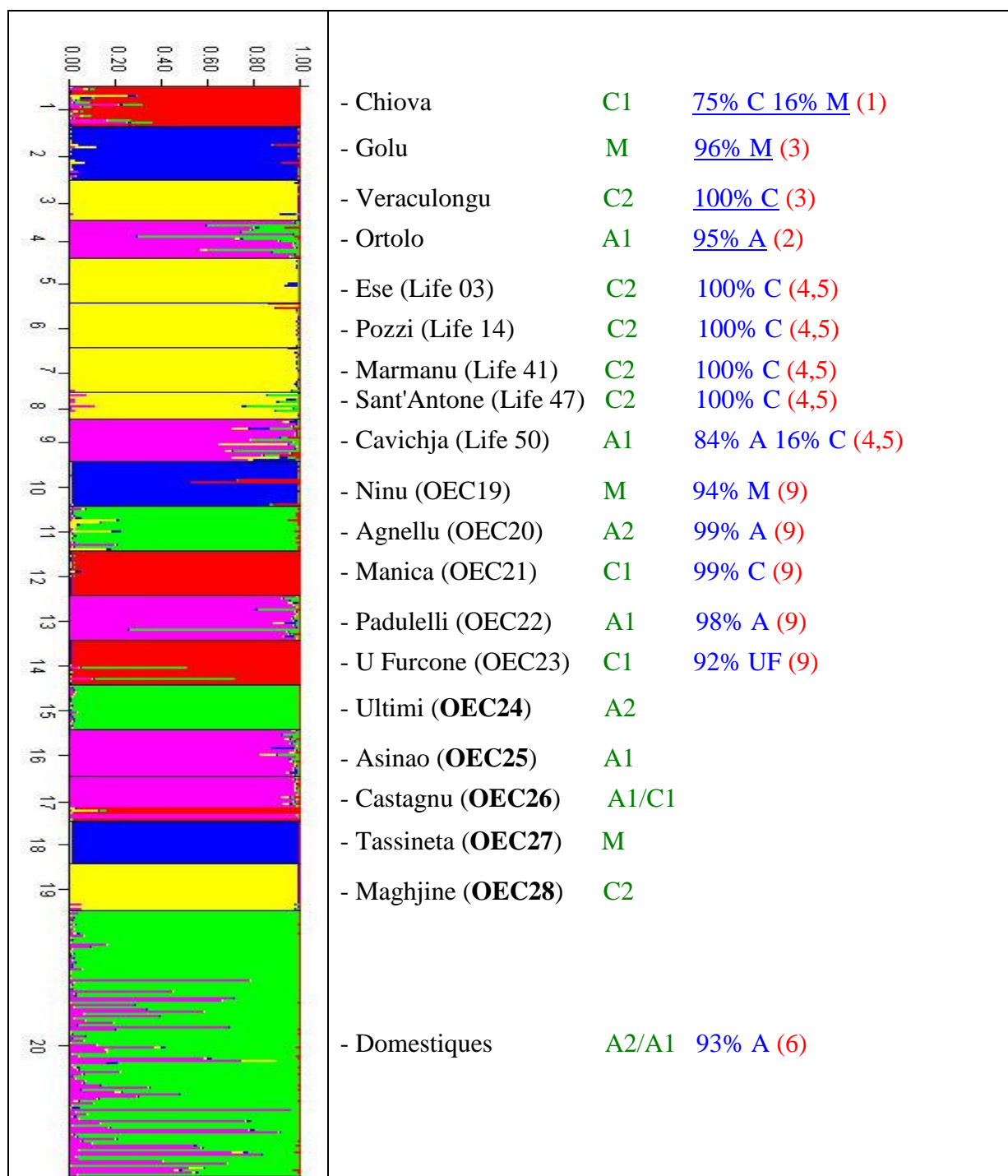


Figure 3 : Test d'assignation (STRUCTURE) donnant 5 lignées (k=5). Les indications en vert sont les classements de l'analyse (C=corse; M=méditerranéenne; A=atlantique) et les indications en bleu sont les données déjà disponibles (souligné=allozymes) ainsi que la référence de l'étude qui les a produites en rouge (voir partie 7).