

**Détermination de l'origine des lignées de truites de Corse
par le biais de l'analyse phylogénétique
d'un marqueur mitochondrial (région de contrôle)**

Novembre 2013



Rivière Liamone : <http://a137.idata.over-blog.com>

Analyses moléculaires et statistiques, interprétation, rédaction : Christelle Tougard*

Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier
UMR CNRS 5554 et UMR IRD 226
Université Montpellier II
Place Eugène Bataillon, cc065
F-34095 Montpellier cedex 05
*Tel : +33 (0)4 67 14 47 17
*Fax : +33 (0)4 67 14 36 22
*E-mail : christelle.tougard@univ-montp2.fr



1. Introduction

Pendant près de 20 ans, le laboratoire de génétique de l'Université Montpellier II a effectué (et effectue encore) des analyses génétiques des truites de Corse, essentiellement sur le type « ancestral » ou « macrostigma ». Les marqueurs utilisés ont été successivement les allozymes puis les microsatellites. En 2012, une première étude a été conduite à partir d'un autre marqueur moléculaire, à savoir la région de contrôle (CR) de l'ADN mitochondrial (ADNmt), caractérisé par séquençage. Ce marqueur a été choisi pour décrire l'histoire ancienne des peuplements, et surtout identifier l'origine continentale des diverses lignées de truites naturelles de Corse.

La première étape du projet a consisté principalement à identifier les haplotypes (types génétiques) présents dans diverses populations de truites de Corse puis de les assigner aux lignées connues de truites (Adriatique AD, Atlantique AT, Marbrée MA ou Méditerranéenne ME). Dans un deuxième temps, ces haplotypes de Corse ont été comparés à ceux présents dans GenBank (banque de données publique où sont archivées toutes les séquences publiées dont celles de truites) et comprenant principalement des truites d'origine continentales.

Cette première étude a permis de déterminer de quelle grande région géographique d'Europe les lignées de truites de Corse sont originaires :

- la lignée AD : les Balkans ;
- la lignée MA : le Nord de l'Italie ;
- la lignée ME : l'Est de l'Espagne ;
- la lignée AT : le Nord de l'Atlantique.

Par l'augmentation du jeu de données (populations corses et continentales de truites), la présente étude a tenté de préciser ces origines géographiques.

2. Matériel et méthodes

a) Echantillonnage

Les truites que nous avons étudiées dans le cadre de ce projet proviennent de 31 populations (2 à 12 ind. / pop.) : 8 populations de truites de Corse pêchées dans le cadre des programmes LIFE et OEC ; 23 populations continentales (France, Italie, Balkans) ou insulaires (Sardaigne) nord-méditerranéennes. Le choix des populations s'est fait en concertation avec Stéphane Muracciole (ONF/FCPPMA) et Patrick Berrebi (ISEM). Chaque population a été localisée sur une carte de l'Ouest de l'Europe (Fig. 1). Les détails concernant ces populations (rivières, bassins versants, n° ISEM des individus, programmes) sont présentés dans le Tableau 1.

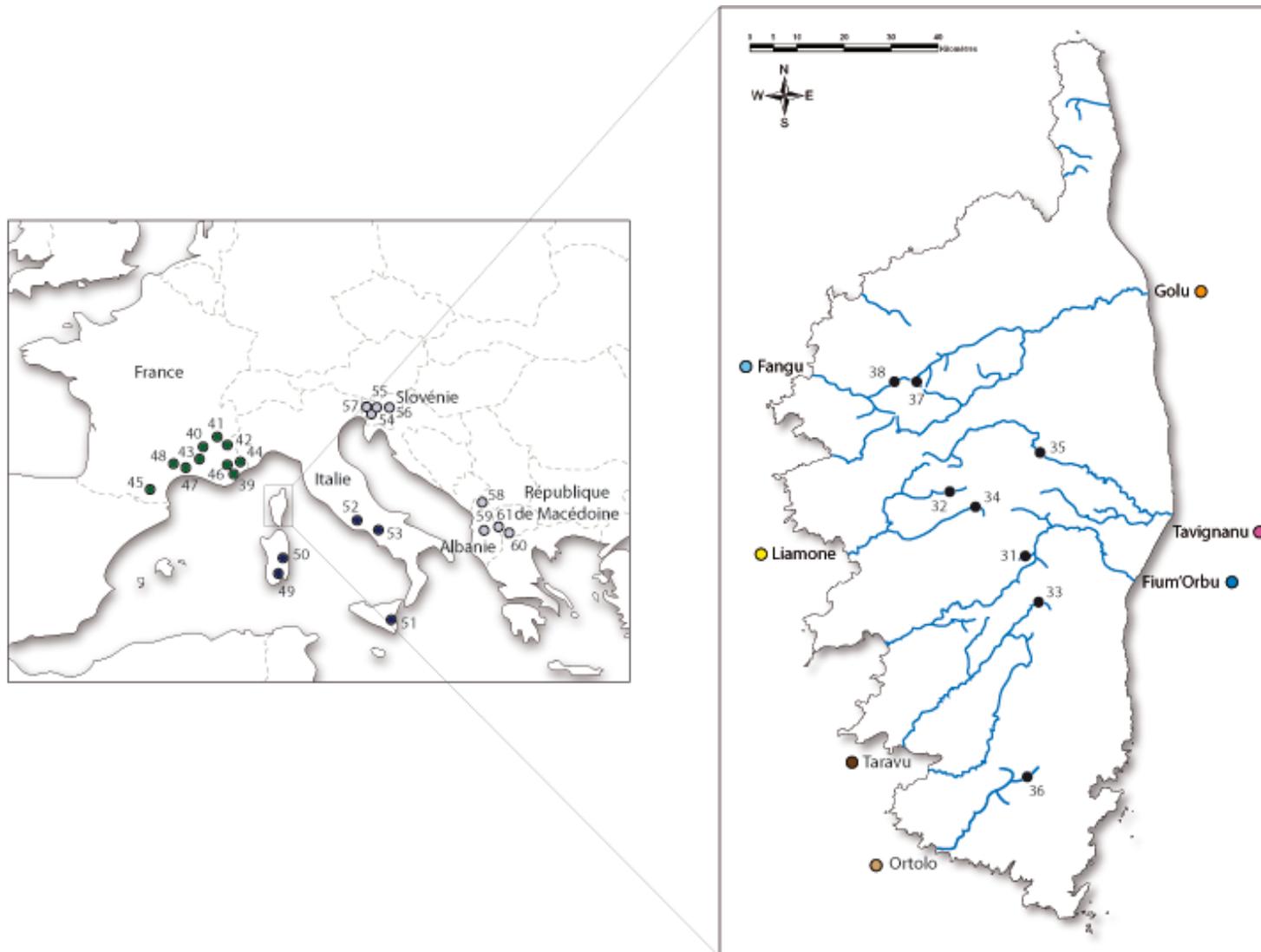


Figure 1 : Localisation des différentes populations étudiées dans le cadre du présent projet. Les numéros et les couleurs font référence, respectivement, aux rivières / stations et aux bassins versants / régions listés dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Liste des populations (rivières) étudiées dans le cadre du projet 2013.

	Rivière / Station	Bassin Versant / Région	Nb d'individus	Echantillons (n° ISEM)	Référence
Corse					
31	Pozzi di Marmanu	Fium'Orbu	4	T8277, 8279, 8281, 8283	LIFE14
32	Coreccia	Liamone	5	T5921, 5923, 5925, 5927, 5928	LIFE38
33	Ciaccia	Tavaru	2	T9293, 9295	LIFE45
34	Zoïcu	Liamone	5	T9343, 9347, 9352, 9357, 9361	LIFE48
35	Paratella	Tavignanu	5	T15508, 15509, 15510, 15511, 15512	OEC08
36	Lataga	Ortolo	5	T18605, 18607, 18609, 18611, 18613	OEC18
37	Tassineta	Golu	5	T23316, 23317, 23320, 23322, 23323	OEC27
38	Maghjine	Fangu	5	T23331, 23333, 23335, 23337, 23339	OEC28
France continentale					
39	Loup	Alpes Maritimes	5	T16126, 16131, 16136, 16140, 16143	-
40	Petit Buëch	Durance	5	T12537, 12543, 12549, 12556, 12563	-
41	Biaysse (amont)	Durance	5	T11559, 11566, 11571, 11577, 11585	-
42	Gleizolles	Durance	5	T4416, 4424, 4432, 4437, 4444	-
43	Fontaine de Vaucluse	Sorgue	5	T7424 - 7428	-
44	Fontan (aval)	Alpes Maritimes	5	T11618, 11625, 11632, 11639, 11647	-
45	Nohèdes (amont)	Pyrénées Orientales	7	T13456 - 13461, 13465	-
46	Cians	Alpes Maritimes	5	T16146, 16152, 16158, 16161, 16164	-
47	Vidourle	Hérault	4	T16100, 16101, 16109, 16114	-
48	Joncel	Hérault	5	T19018, 19020, 19022, 19024, 19026	-
Italie					
49	Camboni	Sardaigne	5	T16246 - 16250	-
50	Flumendosa	Sardaigne	10	T16276 - 16282, 16288 - 16290	-
51	Anapo	Sicile	5	T25009 - 25013	-
52	Fibreno	Latium	3	T5727, 5729, 5733	-
53	Volturno	Campanie	5	T5787 - 5791	-
Balkans					
54	Trebuscica	Soca (Slovénie)	5	T6832 - 6836	-
55	Svenica	Soca (Slovénie)	5	T6752, 6770, 6772, 6774, 6782	-
56	Bistrica	Danube (Slovénie)	8	T2456 - 2459, 2465 - 2468	-
57	Volaja	Soca (Slovénie)	12	T16489 - 16500	-
58	Valbona	Drin (Albanie)	5	T9161, 9163, 9165, 9167, 9169	-
59	Shkumbini	Shkumbini (Albanie)	3	T9059 - 9061	-
60	Kranska	Kranska (Rép. Macédoine)	5	T10037, 10040 - 10043	-
61	Lac Ohrid	Drin (Rép. Macédoine)	10	T8924 - 8926, 8928, 16584 - 16589	-

b) Analyses moléculaires

Les analyses effectuées sont des analyses classiques en biologie moléculaires. Elles se décomposent en trois étapes principalement :

- **Extraction de l'ADN** total avec la méthode dite Chelex / protéinase K^{1,2} à partir de fragments de nageoires des truites sélectionnées dans la banque de tissus de l'ISEM ;
- **Amplification du marqueur moléculaire** choisi, c'est-à-dire dans le cas présent, un fragment la région de contrôle de l'ADN mitochondrial (\approx 970 paires de base). Cette amplification s'est faite à l'aide des amorces PST (5'-CCCAAAGCTAAAATTCTAAAT-3') et FST (5'-GCTTTAGTTAAGCTACGC-3')³ ;
- **Obtention des séquences nucléotidiques**, support moléculaire nécessaire aux analyses statistiques⁴.

c) Analyses statistiques

Deux types d'analyses ont été, principalement, conduites :

- **Reconstructions phylogénétiques :**

Les séquences obtenues ont été alignées manuellement à l'aide du logiciel MEGA⁵. Cette étape permet de mettre en évidence les similarités mais surtout les différences, ou mutations, présentes dans les séquences. Cette étape est essentielle pour entreprendre les reconstructions phylogénétiques et ainsi mettre en évidence les relations de parenté entre les différentes populations.

Les reconstructions phylogénétiques ont été menées par le biais d'une méthode probabiliste : la méthode du maximum de vraisemblance (logiciel PhyML⁶). Dans un premier temps, un arbre phylogénétique a été construit à partir uniquement des séquences de truites de Corse (projets 2012 et 2013) pour voir comment se structurent les populations. Ensuite, nous avons replacé notre étude dans un contexte plus général, afin d'émettre des hypothèses sur l'origine des lignées de truites de Corse et plus particulièrement, sur la truite ancestrale corse. Dans ce dernier cas, des séquences de truites continentales appartenant aux lignées connues (Adriatique AD, Atlantique AT, Marbrée MA, Méditerranéenne ME) de *Salmo trutta* (Tableau 1) provenant du Sud de la France, d'Italie et des Balkans ont été séquencées et ajoutées aux séquences téléchargées (lignées AD, AT, MA, ME, Duero DU et Danubienne DA) de GenBank (Annexe 1). Dans les deux cas, des séquences de saumon, *Salmo salar*, ont été utilisés comme groupe externe pour enraciner l'arbre (Annexe 1).

¹ Estoup *et al.* (1996) *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 5: 295-298.

² Walsh *et al.* (1999) *Biotechniques* 10: 506-513.

³ Cortey & Garcia-Marin (2002) *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33: 831-844.

⁴ Plateforme Séquençage-Génotypage du LabEx CeMEB, Montpellier.

⁵ Tamura *et al.* (2011) *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.

⁶ Guidon & Gascuel (2003) *Systematic Biology* 52: 696-704.

- Diversité et structure des populations :

Des études complémentaires (divergences génétiques et indices de diversité) ont été conduites afin d'estimer la variabilité génétique au sein mais surtout entre les lignées identifiées pour les truites de Corse (projets 2012 et 2013). Les distances génétiques intra- et interlignées ont été estimées à l'aide du logiciel MEGA. Les indices de diversité (diversités nucléotidique et haplotypique, nombre moyen de différences en comparant 2 à 2 les séquences) ont été obtenus à l'aide du logiciel DnaSP⁷.

La structure des populations a été étudiée par le biais d'un réseau d'haplotypes (variants génétiques). Les haplotypes ont été définis grâce au logiciel DnaSP, et les réseaux ont été construits avec le logiciel NETWORK⁸.

3. Résultats

Il a été difficile d'extraire l'ADN puis de l'amplifier pour bon nombre des échantillons antérieurs à 2007, que ce soient des échantillons de Corse ou des Balkans. Plusieurs couples d'amorces ont été utilisés pour essayer d'amplifier des fragments plus petits et chevauchants. Des extractions ont été effectuées sur 20 individus parfois mais sans un meilleur succès. Ceci est dû au fait qu'au cours du temps, l'ADN finit par se dégrader. Pour ces raisons, il n'a été possible d'obtenir qu'une séquence partielle pour certains individus voire aucune séquence. C'est pourquoi seulement 2 et 4 individus, respectivement, des populations du Tavaru (33) et du Fium'Orbu (31) sont incluses dans la présente étude.

a) Reconstructions phylogénétiques

L'alignement des séquences de la région de contrôle comporte 966 paires de base, dont 802 sites constants, 163 sites variables et 96 sites phylogénétiquement informatifs. Parmi les 46 séquences de truites corses incluses dans le présent projet, cinq présentent un polyT de 14 T entre les positions 526 et 539, tout comme la majorité des séquences du projet 2012. En revanche, les autres possèdent 13 T, tout comme la majorité des séquences de truite extraites de GenBank (hormis DA26, ATPIG5, ATT7, ATU54 et ER127).

Les figures 2 et 3 présentent la topologie des arbres obtenus avec la méthode du maximum de vraisemblance. Dans un souci de lisibilité des résultats, sont présentés les arbres obtenus avec seulement les haplotypes de truites de Corse (Fig. 2), puis avec les haplotypes de France, Italie, Balkans et de GenBank (Fig. 3). Les arbres incluant tous les individus sont en Annexes 2 et 3.

⁷ Ramos-Onzins & Rozas (2002) *Molecular Biology and Evolution* 19: 2092-2100.

⁸ <http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm>

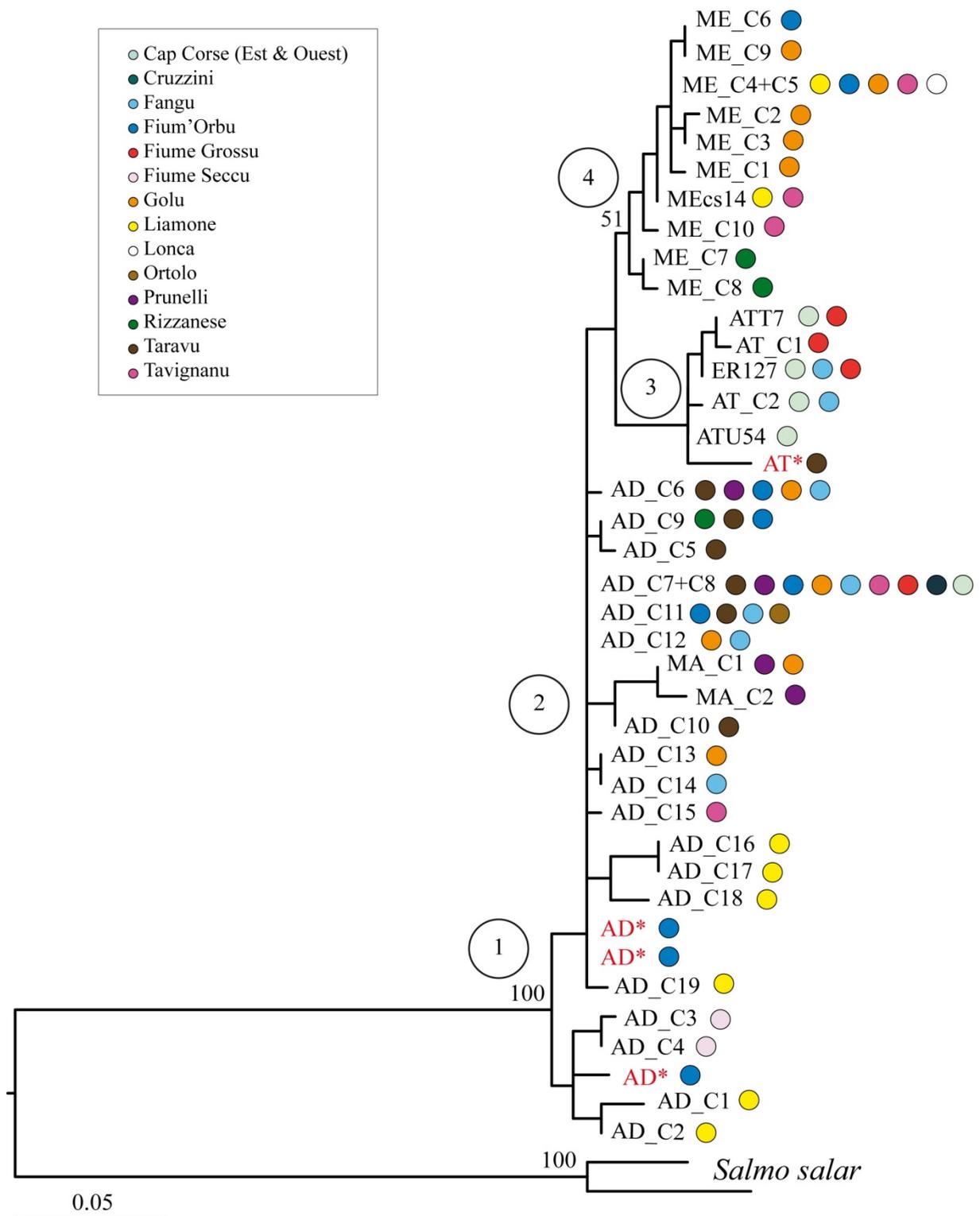


Figure 2 : Arbre reconstruit en maximum de vraisemblance à partir des haplotypes de la région de contrôle de truites de Corse. Les valeurs aux nœuds correspondent aux valeurs de bootstraps ($\geq 50\%$). Les haplotypes en rouge et marqués par * correspondent aux séquences incomplètes. Pour cette raison, nous n'avons pas souhaité leur attribuer un nom d'haplotype. Les autres haplotypes de Corse suivent la nomenclature et la numérotation adoptées lors du projet 2012 (Lignée_CX). La liste des individus par haplotype est donnée dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Liste des haplotypes et des individus correspondants. Les haplotypes en rouge sont nouveaux (par rapport au projet 2012), et les individus en gras sont les spécimens de Corse inclus dans le présent projet. Les haplotypes avec * correspondent aux séquences incomplètes.

Haplotypes	Individus
Méditerranéen	
ME_C1	T10159, T10160, T10161, T10162, T10163, T10179, T10183, T10188, T10193, T10198
ME_C2	T03088, T03089, T03090, T03091
ME_C3	T10788, T10790, T10791
ME_C4+C5	T09233, T09234, T09235, T09236, T10789, T18584, T18585, T18586, T18587, T18603, T19862, T19863, T19864, T19865, T19866, T09343, T09347, T09352, T09357, T09361
ME_C6	T09232
ME_C7	T07703, T07707, T07721
ME_C8	T07717
ME_C9	T10792
ME_C10	T15512
MEcs14	T05927, T15511, T15510, T15509
Adriatique	
AD_C1	T08399, T08413, T08417
AD_C2	T08403, T08408
AD_C3	T10588, T10592, T10602, T10606
AD_C4	T10597
AD_C5	T08117, T08118, T08119
AD_C6	T08018, T08019, T08134, T08138, T08148, T08153, T08333, T08355, T09212, T09213, T09214,
AD_C7+C8	T08015, T08016, T08017, T08054, T08055, T08056, T08057, T08073, T08094, T08096, T08097, T08113, T08143, T08261, T08262, T08264, T08328, T08368, T08369, T08370, T08371, T08372, T15389, T15408, T15409, T15410, T15411, T15412, T15468, T15469, T15470, T15471, T15472, T18483, T18484, T18485, T18486, T18487, T09215, T09216, T19957, T19958, T19960, T19961, T23335
AD_C9	T07712, T08095, T08115, T08116
AD_C10	T08263
AD_C11	T08279, T09295, T18613, T18611, T18609, T18607, T18605, T23339, T23333
AD_C12	T23316, T23317, T23320, T23323, T23337
AD_C13	T23322
AD_C14	T23331
AD_C15	T15508
AD_C16	T05923
AD_C17	T05928
AD_C18	T05925
AD_C19	T05921
AD*	T08277, T08281, T08283
Marbré	
MA_C1	T08197, T08198, T08199, T08200, T08201, T08361, T08362, T08363, T08530, T08531, T08532, T08533, T08534
MA_C2	T08356, T08357
Atlantique	
AT_C1	T15392
AT_C2	T08314, T08318, T08323, T18511, T18512
ATT7	T15388, T18531, T18532, T18533, T18534, T18535
ATU54	T18513, T18514
ER127	T08334, T08335, T08336, T08338, T08343, T08348, T08353, T15390, T15391, T18515, T19959
AT*	T09293

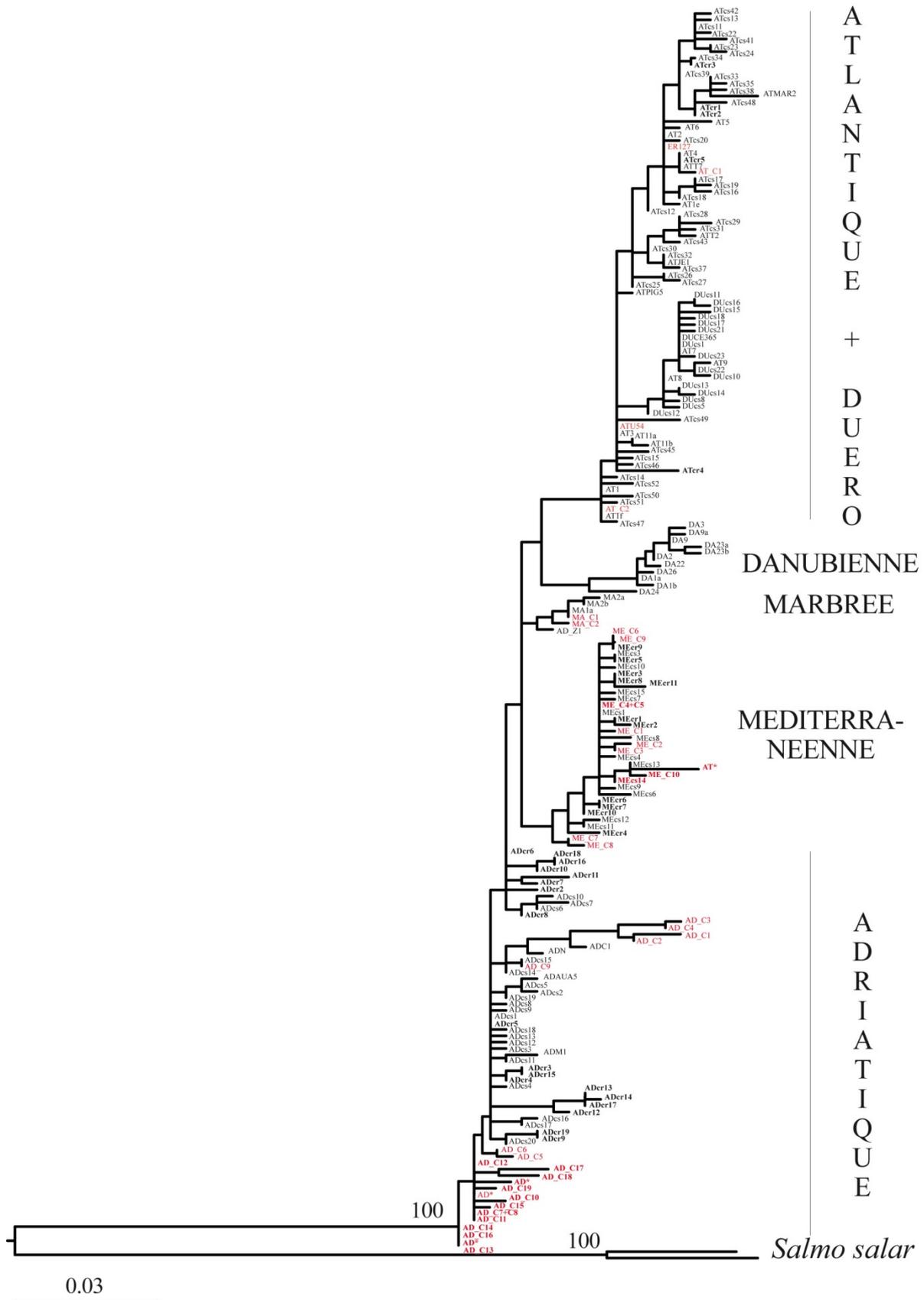


Figure 3 : Arbre reconstruit en maximum de vraisemblance à partir des haplotypes de truites de Corse (en rouge), du Sud de la France, de l'Italie, des Balkans et extraits de GenBank. Les valeurs aux nœuds correspondent aux valeurs de bootstraps ($\geq 50\%$). Le nom des lignées est indiqué à droite de l'arbre. Les nouveaux haplotypes sont en gras.

Le Tableau 2 présente la liste des haplotypes des truites de Corse ainsi que les séquences leur correspondant.

Dans tous les cas (Fig. 2 & 3 ; Annexes 2 & 3), la monophylie de *Salmo trutta* est hautement supportée (valeurs de bootstraps BP = 100%). Les truites de Corse se distribuent en quatre clades (Fig. 2). Replacées dans un contexte général (Fig. 3), il apparaît que ces quatre clades appartiennent à quatre lignées connues de truites : Atlantique (AT), Adriatique (AD), Marbrée (MA), Méditerranéenne (ME). Cependant, les relations de parentés entre ces quatre clades corses (Fig. 2) ou entre les lignées connues de truites (Fig. 3) sont incertaines puisque peu ou pas supportées. Les lignées ME, AT et MA occupent une position particulière au sein de la lignée AD. Nous ne reviendrons pas sur ce point plus loin, l'objet du présent rapport n'étant pas en lien avec la validité de ces lignées.

La distribution des truites de Corse du présent projet au sein des lignées connues n'est pas homogène. Les populations se répartissent de la façon suivante :

- lignée AD : Fangu, Fium'Orbu, Tavaru, Ortolo, Golu, Liamone, Tavignanu ;
- lignée ME : Tavignanu, Liamone ;
- lignée AT : Taravu ;
- lignée MA : aucun.

Comme précédemment, la majorité des individus étudiés a pu être rattachée à la lignée AD, alors qu'aucun nouvel individu ne correspond à la lignée MA. Il est à noter aussi la position basale des truites de Corse (la majorité des haplotypes) de la lignée AD au sein de cette lignée.

b) Diversité génétique

Le pourcentage de divergence génétique a été estimé au sein des lignées mais aussi entre les lignées de truites corses (Tab. 3). La divergence intra-lignée est comprise entre 0,03% et 0,17%, alors que la divergence inter-lignée est comprise entre 0,5% et 0,7%. Dans les deux cas, ces divergences sont faibles et restent proches des valeurs obtenues dans le cadre du projet 2012.

Tableau 3 : Divergences génétiques au sein (d) et entre les lignées de truites de Corse (projets 2012 & 2013).

	d (S.E)	MA_C	AD_C	ME_C	AT_C
MA_Corse	0.0003 (0.0000) ^a	-	0,0027 ^b	0,0023	0,0024
AT_Corse	0,0009 (0,0004)	0,0071	-	0,0025	0,0026
AD_Corse	0,0010 (0,0004)	0,0050	0,0063	-	0,0023
ME_Corse	0,0017 (0,0007)	0,0065	0,0066	0,0052	-

^a et ^b = erreur standard

Les indices de diversité présentent des valeurs homogènes mais relativement faibles quelque soit la lignée considérée. La diversité nucléotidique (π) est comprise entre 0,03 et 0,16%, alors que la diversité haplotypique (h) est comprise entre 0,077 et 0,739. Enfin, le nombre moyen de nucléotides divergents lorsqu'on compare deux à deux les séquences (k) est compris entre 0,077 et 1,532.

Malgré des valeurs faibles de divergence et de diversité, la lignée en Corse qui présente le plus de diversité génétique semble être la lignée ME. Ceci est concordant avec les résultats obtenus dans le cadre du projet 2012.

Tableau 4 : Indices de diversité génétique (N = nombre de séquences ; nh = nombre d'haplotypes ; π = diversité nucléotidique ; h = diversité haplotypique ; k = nombre moyen de différences en comparant deux à deux les séquences).

	N	nh	π	h (sd) ^a	k
MA_Corse	15	2	0,0005	0,248 (0,131)	0,495
AT_Corse	26	6	0,0003	0,077 (0,070)	0,077
AD_Corse	98	19	0,0009	0,327 (0,060)	0,433
ME_Corse	48	10	0,0016	0,739 (0,052)	1,532

^a = erreur standard

c) Structure des populations

Toujours dans un souci de lisibilité des résultats, un réseau d'haplotypes a été généré pour chacune des lignées (Fig. 4A, B, C & D). Trente-sept haplotypes ont pu être identifiés pour les truites de Corse (cf. détail par lignée dans Tab. 2). Parmi ces haplotypes, quatre existaient déjà (ATU54, ER127, ATT7 et Mecs14). Quatre autres, identifiés lors du projet 2012 comme endémiques à la Corse, sont aussi présents parmi les échantillons de France, Italie et Balkans. Les haplotypes restant, dont 10 nouvellement identifiés, apparaissent endémiques de Corse. Seuls les haplotype ME_C5, MA_C1 et AD_C12 se différencient d'un haplotype publié dans GenBank (Mecs1, ADcs1⁹ et MA1a¹⁰) au niveau du polyT (respectivement 14 et 13 T), les autres haplotypes présentant une à plusieurs mutations tout le long de la région de contrôle. Pour rappel, les haplotypes phylogénétiquement proches des haplotypes identifiés en Corse dans le cadre du projet 2012 avaient pour origine : les Balkans pour la lignée adriatique ; le Nord de l'Italie pour la lignée marbrée ; l'Est de l'Espagne pour la lignée méditerranéenne ; le Nord de l'Atlantique pour la lignée atlantique. L'ajout de truites du Sud de la France, d'Italie et des Balkans permet de préciser l'origine des lignées de truites de Corse. En effet, les

⁹ Cortey et al. (2004) *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33: 831-844.

¹⁰ Meraner et al. (2007) *Hydrobiologia* 579: 337-349.

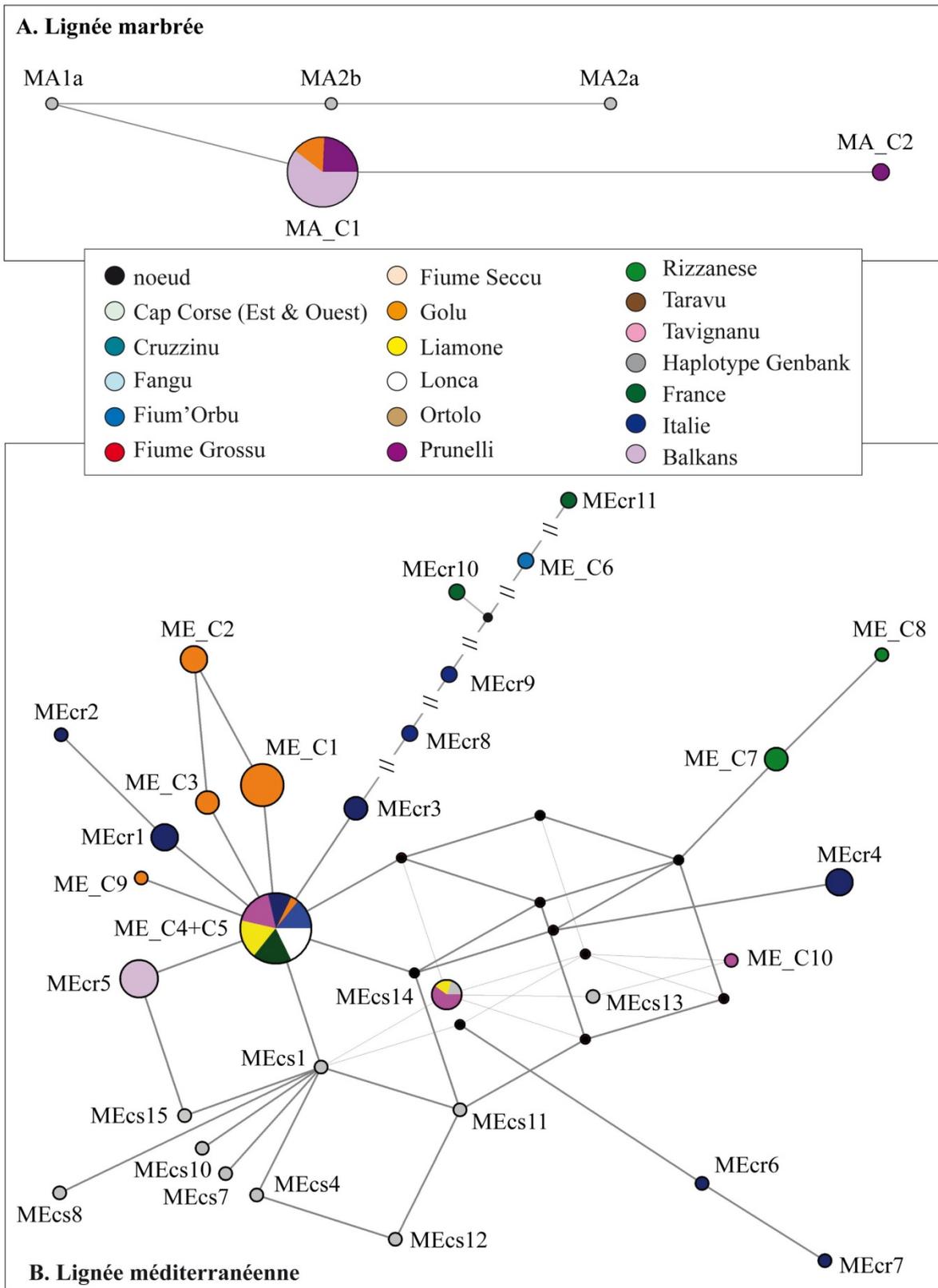


Figure 4 : Réseaux obtenus à partir des haplotypes de truites de Corse, du Sud de la France, d'Italie, des Balkans et ceux extraits de GenBank les plus proches phylogénétiquement pour les lignées marbrée (A), méditerranéenne (B), adriatique (C) et atlantique (D).

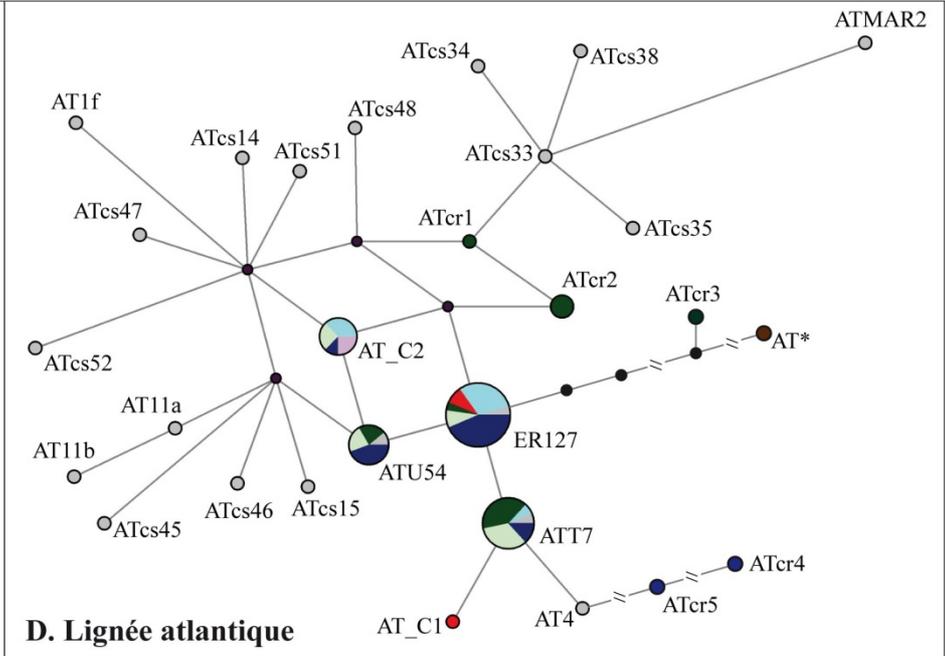
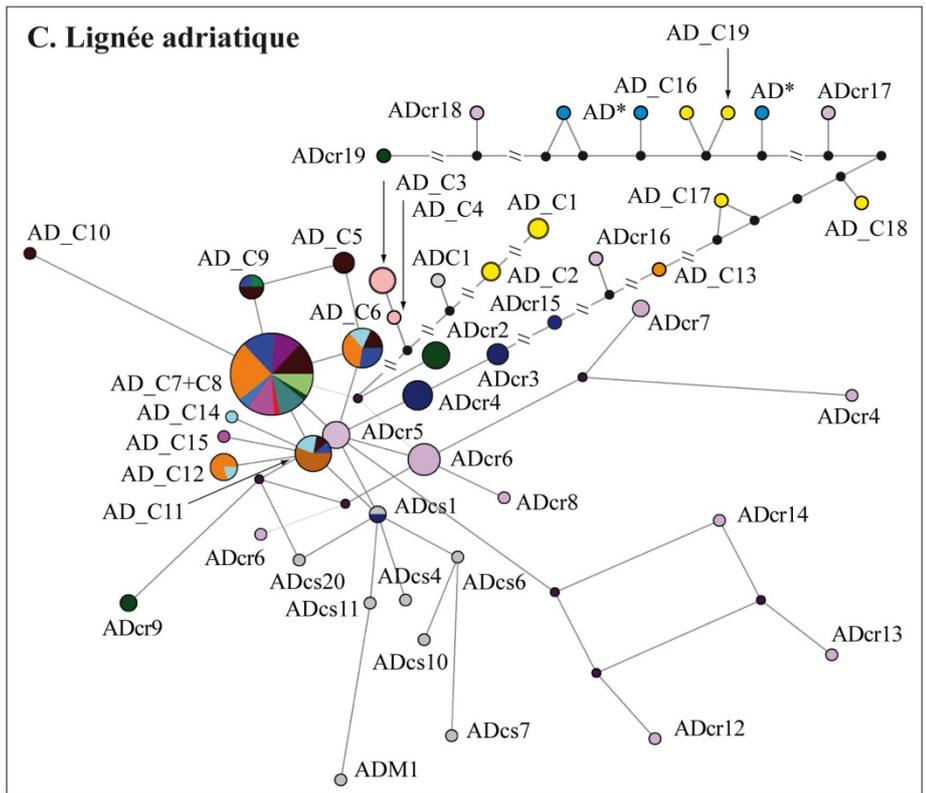


Figure 4 (suite)

haplotypes dits ancestraux (situés au centre des réseaux et incluant des individus de nombreuses localités) regroupent des truites de Corse avec des truites du Sud de la France et/ou d'Italie ou des Balkans. Ainsi, pour la lignée marbrée (Fig. 4A), l'haplotype ancestral (MA_C1) regroupe des truites de Corse (Prunelli et Golu) et des Balkans, plus particulièrement de la Soca en Slovénie (Tab. 5). De même, l'haplotype ancestral de la lignée méditerranéenne (ME_C4+C5 ; Fig. 4B ; Tab. 5) regroupe des truites de Corse (Prunelli, Fium'Orbu, Golu, Lonca et Liamone) et des truites du Sud de la France (Sorgue) et d'Italie (Campagne). L'origine de cette lignée se situerait entre le Sud-Est de la France et le centre ouest de l'Italie. En ce qui concerne l'origine de la lignée adriatique (Fig. 4C) de Corse, la composition de l'haplotype ancestral (AD_C7+C8 ; Tab. 5), regroupant majoritairement des truites de Corse (Taravu, Prunelli, Fium'Orbu, Golu, Fangu, Tavignanu, Fium'Grossu, Cap Corse et Cruzzinu) et une seule truite d'Italie (Sardaigne) ainsi que la structure du réseau (nombreux haplotypes dérivés endémiques de Corse ou du continent) suggère que la lignée adriatique serait en fait originaire de Corse. Enfin, pour la lignée atlantique (Fig. 4D), il est plus difficile de se prononcer car l'haplotype ancestral (ER127 ; Tab. 5) est un haplotype répandu en Europe.

Des contradictions persistent entre les résultats obtenus avec le marqueur mitochondrial (la région de contrôle) et les résultats antérieurs obtenus à partir de marqueurs nucléaires (microsatellites) (Tab. 5). C'est particulièrement vrai pour les rivières Paratella (déjà signalé dans le rapport du projet 2012) et Tassineta.

4. Interprétation - Conclusion

L'analyse de l'ADN mitochondrial (région de contrôle) de 31 populations de truites de Corse, du Sud de la France, d'Italie et des Balkans confirme l'appartenance des truites de Corse aux lignées adriatique (AD), marbrée (MA), méditerranéenne (ME) et atlantique (AT), comme mis en évidence par les études antérieures basées sur l'analyse de marqueurs nucléaires (microsatellites) et le travail réalisé en 2012 à partir du même marqueur mitochondrial. En revanche, il n'est toujours pas possible de définir des sous-unités distinguant les bassins, comme ce fut le cas avec les microsatellites (types Prunelli, Fangu, Taravu, Rizzanese, Fium'Orbu et Tavignanu).

Parmi les populations du présent projet, deux populations (Pozzi di Marmanu et Ciaccia) avaient un génotype 100% Corse à partir des analyses nucléaires. A partir des analyses mitochondriales, une seule semble posséder 100% d'haplotypes Corse (AD). Il n'est pas possible de se prononcer pour la seconde puisque seulement deux séquences ont pu être obtenues, et que l'une est caractérisée par un haplotype adriatique et l'autre un haplotype atlantique. Aucun haplotype marbré n'a été identifié parmi les populations corses étudiées dans le projet 2013. Des contradictions apparaissent lorsque l'on regarde en détail le contenu « génétique » de l'ensemble des populations,

Tableau 5 : Liste des populations (rivières) étudiées dans le cadre du présent projet. Pour chacune, sont mis en correspondance les résultats antérieurs (microsatellites) avec les résultats présents (ADN mitochondrial). Les rivières en bleu présentent des résultats très contradictoires entre lignées mitochondriales et microsatellites.

	Rivière / Station	Bassin Versant / Région	Microsatellites	Lignées ADNmt	Haplotypes	Echantillons (n° ISEM)	Réf.
Corse							
31	Pozzi di Marmanu	Fium'Orbu	100% Corse	4 AD	AD_C11, AD*	T8275, 8277, 8279, 8281, 8283	LIFE14
32	Coreccia	Liamone	82% C, 18% AT	4 AD, 1 ME	AD_C16, 17, 18, 19, MEcs14	T5921, 5923, 5925, 5927, 5928	LIFE38
33	Ciaccia	Tavaru	100% Corse	1 AD, 1 AT	AD_C11, AT*	T9293, 9295	LIFE45
34	Zoïcu	Liamone	12% C, 88% ME	5 ME	ME_C4+C5	T9343, 9347, 9352, 9357, 9361	LIFE48
35	Paratella	Tavignanu	99% C, 1% AT	1 AD, 4 ME	AD_C15, ME_C10, MEcs14	T15508, 15509, 15510, 15511, 15512	OEC08
36	Lataga	Ortolo	99% C, 1% AT	5 AD	AD_C11	T18605, 18607, 18609, 18611, 18613	OEC18
37	Tassineta	Golu	100% ME	5 AD	AD_C12, AD_13	T23316, 23317, 23320, 23322, 23323	OEC27
38	Maghjine	Fangu	98% C, 2% AT	5 AD	AD_C7+8, 11, 12, 14	T23331, 23333, 23335, 23337, 23339	OEC28
France continentale							
39	Loup	Alpes Maritimes	-	5 ME	MEcr1, MEcr2	T16126, 16131, 16136, 16140, 16143	-
40	Petit Buëch	Durance	-	5 AD	ADcr3, 4, 15	T12537, 12543, 12549, 12556, 12563	-
41	Biaysse (amont)	Durance	-	1 AD, 4 ME	ADcr4, MEcr3, 8	T11559, 11566, 11571, 11577, 11585	-
42	Gleizolles	Durance	-	4 AD, 1 ME	ADcr4, MEcr9	T4416, 4424, 4432, 4437, 4444	-
43	Fontaine de Vaucluse	Sorgue	-	5 ME	ME_C4+C5	T7424 - 7428	-
44	Fontan (aval)	Alpes Maritimes	-	4 ME, 1 AT	MEcr4, ATU54	T11618, 11625, 11632, 11639, 11647	-
45	Nohèdes (amont)	Pyrénées Orientales	-	6 AT	ATU54, ER127	T13456 - 13461, 13465	-
46	Cians	Alpes Maritimes	-	5 AT	ATT7, ER127	T16146, 16152, 16158, 16161, 16164	-
47	Vidourle	Hérault	-	4 AT	ER127, ATU54, ATT7	T16100, 16101, 16109, 16114	-
48	Joncel	Hérault	-	1 AD, 2 AT, 2 ME	ADcs1, ATcr4, 5, MEcr6, 7	T19018, 19020, 19022, 19024, 19026	-

Tableau 5 (suite)

	Rivière / Station	Bassin Versant / Région	Microsatellites	Lignées ADNmt	Haplotypes	Echantillons (n° ISEM)	Réf.
Italie							
49	Camboni	Sardaigne	-	5 AD	ADcr2	T16246 - 16250	-
50	Flumendosa	Sardaigne	-	9 AT, 1 AD	ATT7, ATU54, ER127, AD_C7+C8	T16276 – 16282, 16288 - 16290	-
51	Anapo	Sicile	-	5 AT	ATcr1, 2, 3	T16276 - 25013	-
52	Fibreno	Latium	-	3 AD	ADcr9, 19	T5727, 5729, 5733	-
53	Volturno	Campanie	-	3 ME	ME_C4+C5	T5787 - 5791	-
Balkans							
54	Trebuscica	Soca (Slovénie)	-	5 MA	MA_C1	T6832 - 6836	-
55	Svenica	Soca (Slovénie)	-	5 MA	MA_C1	T6752, 6770, 6772, 6774, 6782	-
56	Bistrica	Danube (Slovénie)	-	8 ME	MEcr5	T2456 – 2459, 2465 - 2468	-
57	Volaja	Soca (Slovénie)	-	10 MA, 2 AT	MA_C1, AT_C2	T16489 -16500	-
58	Valbona	Drin (Albanie)	-	5 AD	ADcr11, 12, 13, 14, 17	T9161, 9163, 9165, 9167, 9169	-
59	Shkumbini	Shkumbini (Albanie)	-	3 AD	ADcr10, 16, 18	T9059 - 9061	-
60	Kranska	Kranska (Rép. Macédoine)	-	5 AD	ADcr5	T10037, 10040 - 10043	-
61	Lac Ohrid	Drin (Rép. Macédoine)	-	10 AD	ADcr6, 7, 8	T8924 - 8926, 8928, 16584 - 16589	-

certaines ayant majoritairement des haplotypes AD ou ME alors qu'elles ont, respectivement, un génotype microsatellite majoritairement méditerranéen et Corse (Tab. 5). Ces contradictions sont le résultat probable d'hybridations anciennes et naturelles entre les lignées naturelles (AD et ME).

D'après nos reconstructions phylogénétiques et les réseaux d'haplotypes, l'origine des différentes lignées a pu être précisée. L'origine de la lignée marbrée serait à l'Ouest de la Slovénie, celle de la lignée méditerranéenne dans le Sud-Ouest de la France ou le Nord-Est de l'Italie, alors que celle de la lignée atlantique serait dans le Sud de la France. En revanche, de part la position basale (donc ancestrale) des haplotypes AD au sein de la lignée AD (arbre phylogénétique de la Fig. 3) ainsi que la composition de l'haplotype ancestral (presque exclusivement des individus corses) et l'existence de nombreux haplotypes AD dérivés et endémiques de Corse (network de la Fig. 4C), l'origine de la lignée adriatique serait en Corse.

L'ajout de séquences de populations du continent n'a cependant toujours pas permis de résoudre avec robustesse les relations de parenté entre les différentes lignées. De ce fait, il n'est pas possible d'essayer de dater par le biais de la méthode des datations moléculaires l'arrivée de ces lignées en Corse, et donc identifier les événements qui ont favorisé l'arrivée des truites en Corse. Pour renforcer les résultats actuels et dater l'arrivée des différentes lignées de truites en Corse, il sera indispensable de combiner l'analyse de la région de contrôle à un autre marqueur mitochondrial moins variable comme le gène du cytochrome *b*.

En perspective donc, nous proposons un complément d'analyses dans les années à venir consistant principalement à compléter les séquences de truites de Corse déjà obtenues par le séquençage d'une autre zone mitochondriale (cytochrome *b*) en se basant sur le travail réalisé lors des projets 2012 et 2013 pour le choix des populations et des individus à étudier.

Fait à Montpellier le 26 novembre 2013.

Annexe 1 : Liste des haplotypes extraits de GenBank et utilisés pour l'obtention de l'arbre phylogénétique présenté en Figure 3.

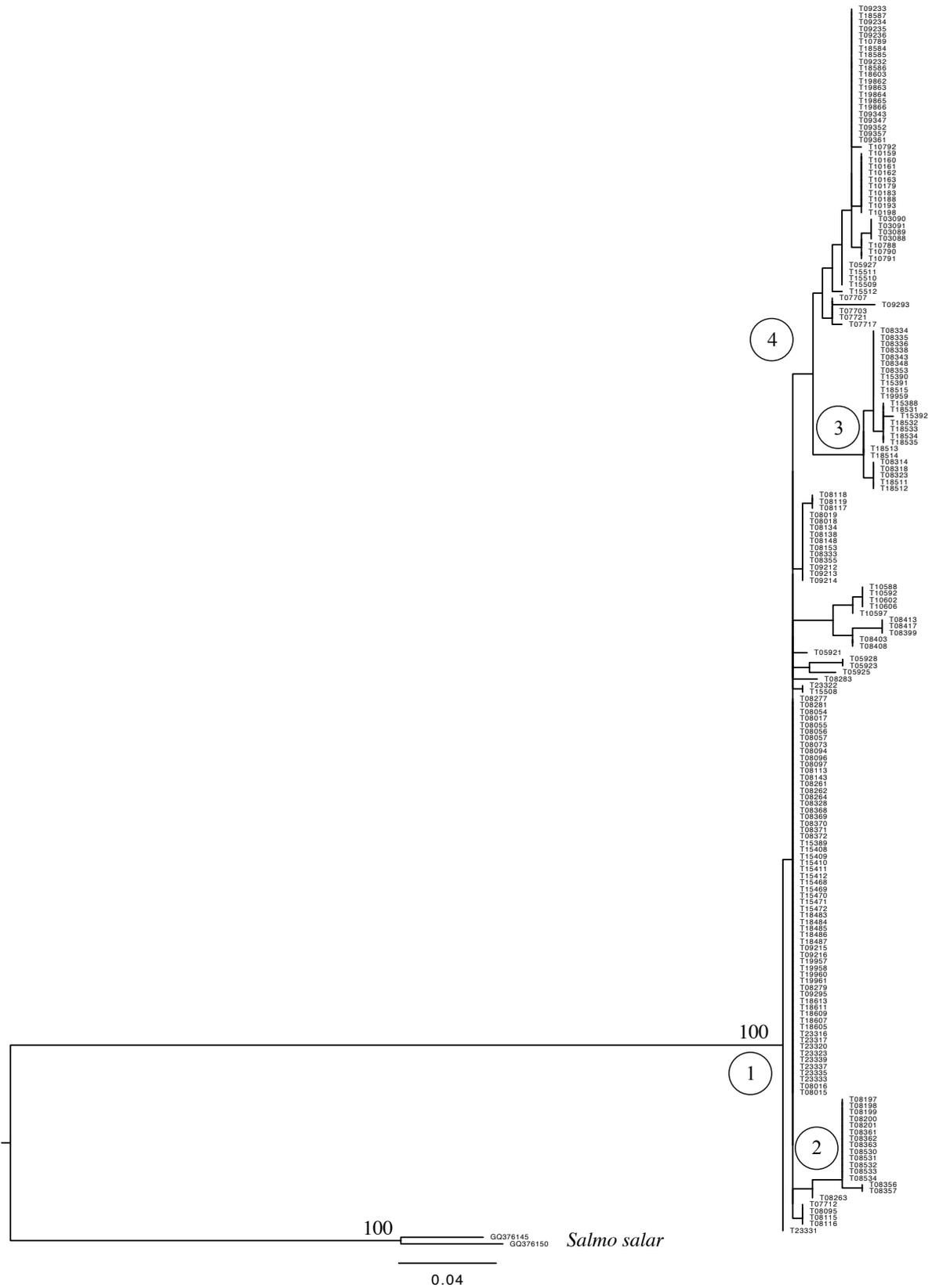
	N° Accession Genbank	Références Bibliographiques
<i>Salmo strutta</i>		
Lignée DU		
DUcs1	EF530513	Cortey <i>et al.</i> (2009)
Ducs5	EF530517	Cortey <i>et al.</i> (2009)
Ducs8	EF530520	Cortey <i>et al.</i> (2009)
DUcs10	EF530522	Cortey <i>et al.</i> (2009)
DUcs11	EF530523	Cortey <i>et al.</i> (2009)
DUcs12	EF530524	Cortey <i>et al.</i> (2009)
DUcs13	EF530525	Cortey <i>et al.</i> (2009)
DUcs14	EF530526	Cortey <i>et al.</i> (2009)
DUcs15	EF530527	Cortey <i>et al.</i> (2009)
DUcs16	EF530528	Cortey <i>et al.</i> (2009)
DUcs17	EF530529	Cortey <i>et al.</i> (2009)
DUcs18	EF530530	Cortey <i>et al.</i> (2009)
DUcs21	EF530533	Cortey <i>et al.</i> (2009)
DUcs22	EF530534	Cortey <i>et al.</i> (2009)
DUcs23	EF530535	Cortey <i>et al.</i> (2009)
Lignée AT		
ATcs11	AY836327	Cortey <i>et al.</i> (2004)
ATcs13	AY836329	Cortey <i>et al.</i> (2004)
ATcs14	EF530476	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs15	EF530477	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs16	EF530478	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs17	EF530479	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs18	EF530480	Cortey <i>et al.</i> (2009)

ATcs19	EF530481	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs20	EF530482	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs22	EF530484	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs23	EF530485	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs24	EF530486	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs25	EF530487	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs26	EF530488	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs27	EF530489	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs28	EF530490	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs29	EF530491	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs30	EF530492	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs31	EF530493	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs32	EF530494	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs33	EF530495	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs34	EF530496	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs35	EF530497	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs37	EF530499	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs38	EF530500	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs39	EF530501	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs41	EF530502	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs42	EF530503	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs43	EF530504	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs45	EF530505	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs46	EF530506	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs47	EF530507	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs48	EF530508	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs49	EF530509	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs50	EF530510	Cortey <i>et al.</i> (2009)

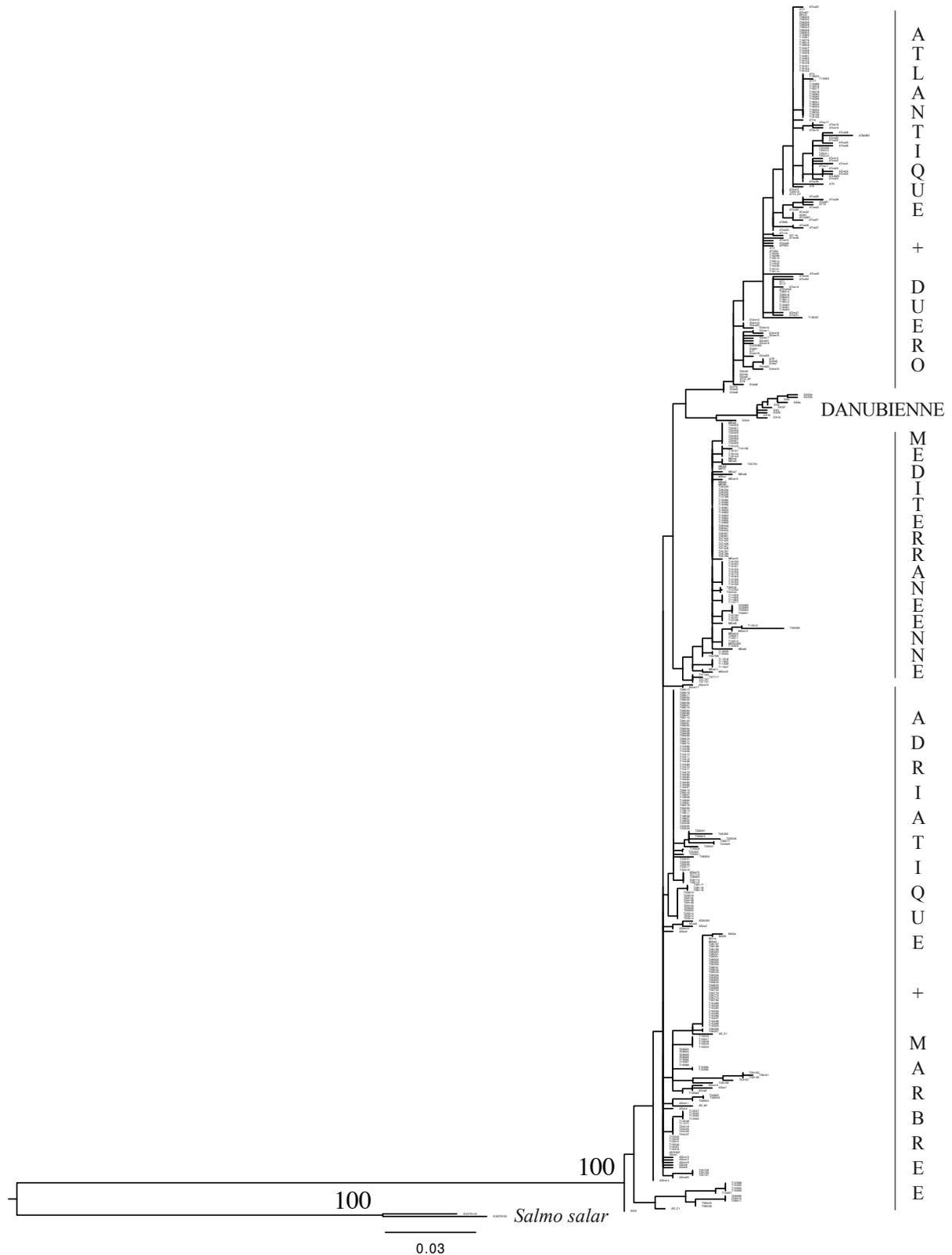
ATcs51	EF530511	Cortey <i>et al.</i> (2009)
ATcs52	EF530512	Cortey <i>et al.</i> (2009)
AT1e	DQ841192	Meraner <i>et al.</i> (2007)
AT1f	DQ841193	Meraner <i>et al.</i> (2007)
AT1	AF273086	Cortey & Garcia-Marin, unpubl.
AT2	AF273087	Cortey & Garcia-Marin, unpubl.
AT3	AF274574	Cortey & Garcia-Marin, unpubl.
AT4	AF274575	Cortey & Garcia-Marin, unpubl.
AT5	AF274576	Cortey & Garcia-Marin, unpubl.
AT6	AF274577	Cortey & Garcia-Marin, unpubl.
AT7	AF274578	Cortey & Garcia-Marin, unpubl.
AT9	AF274579	Cortey & Garcia-Marin, unpubl.
AT10_AF	AF274580	Cortey & Garcia-Marin, unpubl.
AT10_AY	AY185577	Duftner <i>et al.</i> (2003)
AT11a	AY185578	Duftner <i>et al.</i> (2003)
AT11b	AY185579	Duftner <i>et al.</i> (2003)
ATPIG5	AF253559	Suarez <i>et al.</i> (2001)
ATJE1	AF253557	Suarez <i>et al.</i> (2001)
ATMar2	AF253556	Suarez <i>et al.</i> (2001)
ATT2	AF253554	Suarez <i>et al.</i> (2001)
ATU54	AF253543	Suarez <i>et al.</i> (2001)
ATT7	AF253542	Suarez <i>et al.</i> (2001)
ER127	AF253541	Suarez <i>et al.</i> (2001)
Lignée AD		
ADAUA5	AF253551	Suarez <i>et al.</i> (2001)
ADC1	DQ381567	Susnik <i>et al.</i> (2007)
ADM1	DQ381566	Susnik <i>et al.</i> (2007)
ADZ1	DQ381565	Susnik <i>et al.</i> (2007)

ADN	DQ297172	Melkic <i>et al.</i> , unpubl.
ADcs1	AY836330	Cortey <i>et al.</i> (2004)
ADcs2	AY836331	Cortey <i>et al.</i> (2004)
ADcs3	AY836332	Cortey <i>et al.</i> (2004)
ADcs4	AY836333	Cortey <i>et al.</i> (2004)
ADcs5	AY836334	Cortey <i>et al.</i> (2004)
ADcs6	AY836335	Cortey <i>et al.</i> (2004)
ADcs7	AY836336	Cortey <i>et al.</i> (2004)
ADcs8	AY836337	Cortey <i>et al.</i> (2004)
ADcs9	AY836338	Cortey <i>et al.</i> (2004)
ADcs10	AY836339	Cortey <i>et al.</i> (2004)
ADcs11	AY836340	Cortey <i>et al.</i> (2004)
ADcs12	AY836341	Cortey <i>et al.</i> (2004)
ADcs13	AY836342	Cortey <i>et al.</i> (2004)
ADcs14	AY836343	Cortey <i>et al.</i> (2004)

Annexe 2 : Arbre phylogénétique reconstruit en maximum de vraisemblance à partir des séquences de la région de contrôle des truites de Corse. Les valeurs aux nœuds correspondent aux valeurs de bootstrap ($\geq 50\%$) et les chiffres encadrés aux quatre lignées de truites identifiées en Corse.



Annexe 3 : Arbre phylogénétique reconstruit en maximum de vraisemblance à partir des séquences de la région de contrôle de tous les individus de Corse, France, Italie et Balkans et des haplotypes de GenBank. Les valeurs aux nœuds correspondent aux valeurs de bootstrap ($\geq 50\%$) et les lignées sont indiquées sur la droite de l'arbre.



Annexe 4 : Rappel des populations corses et des résultats du projet 2012

	Rivière	Bassin Versant	Microsatellites	Lignée ADNmt	Haplotypes	Echantillons (n° ISEM)	Référence
1	Uccialinu	Taravu	100% C	5 AD	AD_C6, AD_C7 ^a	T08015-T08019	LIFE01
2	Val d'Ese	Prunelli	100% C	5 AD	AD_C7	T08054-T08057, T08073	LIFE03
3	Rina	Fium'Orbu	100% C	5 AD	AD_C7, AD_C9	T08094-T08097, T08113	LIFE05
4	Veraculongu	Taravu	100% C	5 AD	AD_C5, AD_C9	T08115-T08119	LIFE06
5	A Manica	Golu	100% C	5 AD	AD_C6, AD_C7	T08134, T08138, T08143, T08148, T08153	LIFE07
6	Paratella	Prunelli	100% C	5 MA	MA_C1	T08197-T08201	LIFE10
7	Chjuva	Taravu	90% C 5% Me 5% At	4 AD	AD_C7, AD_C10	T08261-T08264	LIFE13
8	E Rocce	Fangu	90% C 10% At	2 AD, 3 AT	AD_C6, AD_C7, AT_C2	T08314, T08318, T08323, T08328, T08333	LIFE16
9	Bocca Bianca	Fangu	89% C 11% At	6 AT	ER127^b	T08334-T08336, T08338, T08343, T08348, T08353	LIFE17
10	Carnevalle	Prunelli	100% C	1 AD, 5 MA	AD_C6, MA_C1, MA_C2	T08355-T08357, T08361-T08363	LIFE19
11	Puzzatelli	Tavignanu	100% C	5 AD	AD_C7	T08368-T08372	LIFE20
12	Botaro	Liamone	81% C 17% Me	5 AD	AD_C1, AD_C2	T08399, T08403, T08408, T8413, T08417	LIFE22
13	E Ventose	Golu	100% C	5 MA	MA_C1	T08530-T08534	LIFE31
14	Chjuvone	Rizzanese	100% C	1 AD, 4 ME	AD_C9, ME_C7, ME_C8	T07703, T07707, T07712, T07717, T07721	LIFE35
15	Susinelle-Ruellu	Fium'Orbu	89% C 11% Me	5 ME	ME_C6, ME_C5	T09232-T09236	LIFE42

16	E Radule	Golu	100% C	5 ME	ME_C1	T10159-T10163	LIFE52
17	U Golu	Golu	100 Me	5 ME	ME_C1	T10179, T010183, T10188, T10193, T10198	LIFE53
18	Lette	Fiume Seccu	100% C	5 AD	AD_C3, AD_C4	T10588, T10592, T10597, T10602, T10606	LIFE54
19	Corbica	Golu	100% C	5 ME	ME_C3, ME_C5, ME_C9	T10788-T10792	LIFE60
20	Belle Bone	Fiume Grossu	96% C 4% At	1 AD, 4 AT	AD_C7, ATT7, ER127, AT_C1	T15388-T15392	OEC2
21	Ercu	Golu	94% C 6% At	5 AD	AD_C7	T15408-T15412	OEC3
22	Corrachia	Cruzzinu	95% C 5% At	5 AD	AD_C7, AD_C8	T15468-T15472	OEC6
23	Ancinu	Golu	97% C 3% At	5 AD	AD_C7	T18483-T18487	OEC12
24	Olcani	Cap Corse (Ouest)	99% C 1% At	5 AT	AT_C2, ATU54, ER127	T18511-T18515	OEC13
25	Olmèta du Cap	Cap Corse (Ouest)	98% C 2% At	5 AT	ATT7	T18531-T18535	OEC14
26	Forca i Tassi	Lonca	100% C	5 ME	ME_C5, ME_C4	T18584-T18587, T18603	OEC17
27	Pont de Marmanu	Fium'Orbu	100% C	5 AD	AD_C6, AD_C7	T09212-T09216	LIFE41
28	Ninu	Tavignanu	90% Me 10% C	5 ME	ME_C5	T19862-T19866	OEC19
29	U Furcone	Cap Corse (Est)	95% ? 5% At	4 AD, 1 AT	AD_C7, ER127	T19957-T19961	OEC23
30	Haut Golu	Golu	-	4 ME	ME_C2	T03088-T03091	-

^a haplotypes endémiques de Corse AD_CX, MA_CX, ME_CX et AT_CX ; ^b en gras, haplotypes existant dans GenBank