

Analyse génétique de contrôle d'un échantillon de truites de Pozzi di Marmanu - Test à 2 marqueurs

Projet CORS2L2
Rapport de novembre 2012



© Stéphane Muracciole

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

1. Introduction

Cette analyse de routine consiste à vérifier rapidement le niveau d'introgression atlantique de populations déjà analysées dans le passé. S'agissant d'une simple vérification, un protocole peu onéreux, basé sur deux marqueurs seulement, a été mis au point (Berrebi 2010) et déjà employé en 2011 sur 5 stations (Varaculongu, Sant' Antone, Chjuvone, Ese et Manica) (Berrebi & Shao, 2011).

2. Echantillonnage

Les échantillons de nageoire sont parvenues au laboratoire de Montpellier le 24 septembre 2012. Pris isolément, un seul échantillon analysé ne permet pas de connaître sa composition. Pour cela, des échantillons de référence (Tableau 1), de lignée génétique connue, puisés dans la collection du laboratoire, servent aux comparaisons.

Station	année	Nombre	N° ISEM	Type d'échantillon
Pozzi di Marmanu	2012	20	T23351 à T23370	échantillon à analyser
Pozzi di Marmanu	2004	10	T08274 à T08283	même station il y a 8 ans
Ortolo	1996	10	T03804 à T03813	100% atlantique en rivière corse
Pisciculture Isère	2008	10	T16946 à T16955	souche domestique commerciale
Pisciculture Seine Maritime	2008	10	T16956 à T16965	souche domestique commerciale

Tableau 1 : échantillon à analyser et échantillons de référence

3. Méthode moléculaire

Cet échantillon a été analysé au niveau des 2 locus microsatellites (Mst85 et Oneμ9) qui ont été déterminés par l'analyse de 2010 (Berrebi, 2010) et exploités avec succès sur 5 échantillons (Berrebi & Shao, 2011).

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 maintenus séparés les uns des autres).

Les migrations sont scannées (scanner FMBIO II), visualisés 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 donnée en Annexe 2 est la base de tous les calculs statistiques.

4. Méthode statistiques

La matrice de données génotypiques (Annexe 2) additionnée des génotypes de référence d'origine connue (liste en Tableau 1) dont deux lots de 10 truites provenant de piscicultures

élevant la souche domestique INRA-SEMII, la plus répandue en France, et un échantillon totalement atlantique d'une rivière corse, servent de base aux calculs.

Dans le but de répondre aux questions posées, la méthode la plus adaptée 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.

5. Résultats

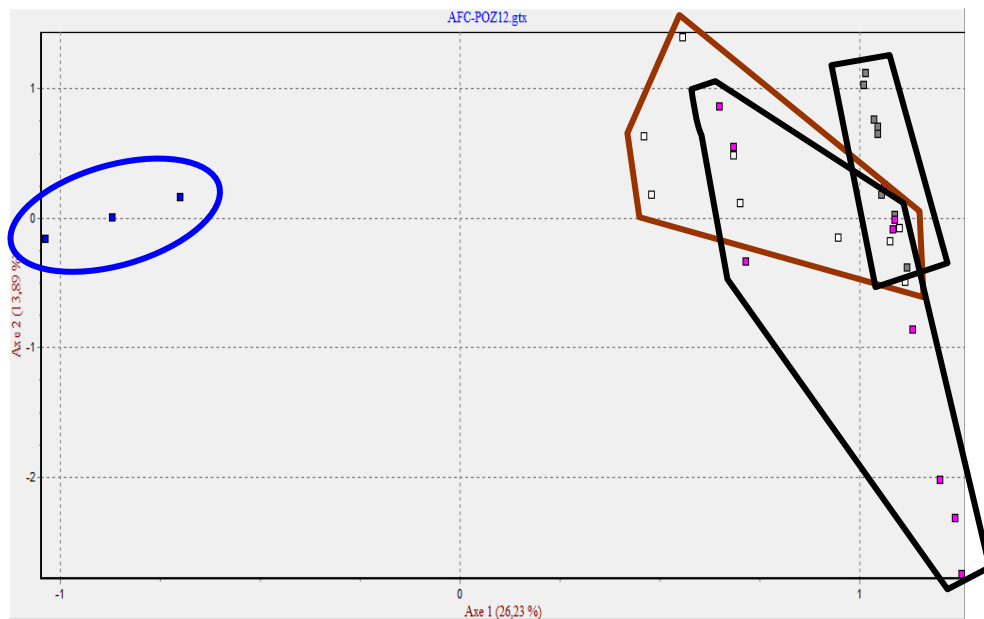


Figure 1 : Représentation graphique des truites de Pozzi échantillonnée en 2012, et position relative des truites de la même station capturées en 2004 (ces deux échantillons, séparés par 8 années, sont entièrement contenus dans la même ellipse bleue) et des truites atlantiques (Ortolo 1996 en brun et les deux piscicultures commerciales en noir)

6. Interprétation et discussion

Les résultats de l'analyse représentés sur la Figure 1 sont très nets. La même station (Pozzi di Marmanu) a été analysée en 2004 à l'occasion du Life Macrostigma (lot 14) et en 2012 pour le présent contrôle. Les deux échantillons (de 10 et 20 truites respectivement) sont strictement superposés dans l'ellipse bleue, montrant par là une stabilité génétique sur 8 ans.

D'autre part, les trois échantillons de référence de truites atlantiques sont bien séparés de Pozzi par une large zone vierge (centre de la Figure 1).

Ceci démontre que la station Pozzi di Marmanu est restée 100% de type corse 8 années après la première analyse.

7. Références bibliographiques

Berrebi P. 2010. Tests pour la détermination de l'analyse minimum pour distinguer les truites de types corse ancestral, méditerranéen et atlantique domestiques marqueurs microsatellites: 11p. Rapport de l'Université Montpellier 2.

Berrebi P., Shao Z. 2011. Test à deux marqueurs. Détermination rapide de la composition génétique des populations de truites de 5 stations 2011: Varaculongu, Sant' Antone, Chjuvone, Ese et Manica, 3p. Rapport d'étude pour la Fédération de Pêche de Corse.

Montpellier le 15 novembre 2012



© Stéphane Muracciole

La truite corse ancestrale de Pozzi di Marmanu