

# Structure génétiques des truites (*Salmo trutta*) des cours d'eau de la mer tyrrhénienne Marqueurs microsatellites

## Rapport TYRRH



Analyses statistiques et rédaction: Patrick BERREBI  
Analyses moléculaires: Zhaojun SHAO, Yuki MINEGISHI, Bernard LASSERRE  
Institut des Sciences de l'Evolution, Université Montpellier 2  
Tél: 04 67 14 37 32, Mél: [patrick.berrebi@univ-montp2.fr](mailto:patrick.berrebi@univ-montp2.fr)

Analyses moléculaires: David SCHIKORSKI  
Laboratoire Genindexe, 6, Rue des Sports, 17000 La Rochelle  
Tél: 05 46 30 69 66, Mél: [d.schikorski@genindexe.com](mailto:d.schikorski@genindexe.com)

## 1. Introduction

Le présent rapport préfigure une publication scientifique en anglais décrivant la structure génétique des truites habitant les cours d'eau de la mer Tyrrhénienne.

Parce que certains auteurs ne lisent pas le français, les tableaux, figures et certains paragraphes pivot seront traduits en anglais *en italiques*.

Le projet d'analyse de ces truites est avant tout dû à la rencontre de chercheurs et gestionnaires locaux et à la constatation que la systématique et l'organisation de ces truites, certaines en voie de disparition, sont très peu connues.

Le présent rapport a été rédigé rapidement afin d'informer les différents contributeurs sur les premiers résultats très intéressants, afin qu'ils puissent participer à la réflexion.

De nos jours, un article de génétique des populations basé sur les microsatellites doit s'appuyer sur une phylogénie claire des lignées génétiques en présence. Les microsatellites, marqueurs hypervariables, se saturent rapidement (= à courte distance géographique) et ne suffisent pas pour déduire des résultats phylogénétiques.

Afin de ne pas surcharger le présent article en préparation, il a été convenu une collaboration avec plusieurs équipes européennes sur les séquences mitochondriales (DLoop).

D'autre part, une étude morphologique de truites de la même région a été initiée en collaboration entre morphologistes et généticiens. Ici encore, il est nécessaire d'appuyer l'étude sur une phylogénie mitochondriale.

Ce sont donc bien trois articles qui sont en préparation, l'article de phylogénie devant être publié en premier, celui basé sur les microsatellites en second.

Tentative de titre et de liste d'auteurs (qui n'engagent que Patrick Berrebi)

**Trout phylogeography of western Mediterranean basin : Albania, Macedonia, Montenegro, Bosnia and Herzegovina, Croatia, Slovenia, Italy, Corsica (PHYLO-ME)**

Splendiani, Giovannotti, Caputo, Maric, Susnik, Snoj, Berrebi, Sabatini, Arculeo, Tougard

**Organization of the brown trout (*Salmo trutta*) populations living in Tyrrhenian basin, based on microsatellite data (TYRRH).**

Berrebi, Arculeo, Muracciole, Sabatini, Palmas, Caputo

**Morphological differentiation of Tyrrhenian trout with reference to the Algerian taxon *Salmo macrostigma* (TYRRH-MORPH)**

Delling, Sabatini, Muracciole, Tougard, Berrebi

Ce rapport préliminaire est envoyé à tous les auteurs cités. Il n'y a pas de garantie que les listes d'auteurs soient définitives.

*This rapid report on the progression of the Tyrrhenian trout investigations has been sent to the expected authors of the three papers in preparation (see framed text just above). There is no guaranty that the co-authors listing will be maintained as it is, this is only my vision at this beginning 2015 year.*

*This is the opportunity for all expected co-authors to suggest improvements of the global project.*

*This organization stems from the idea that it is difficult to publish microsatellites genetics of populations of several lineages living in a large area. More clearly, microsatellites hypervariable markers are not good for phylogeny. Diversified populations analyses should structured by mitochondrial phylogeny including samples of a larger area.*

*For this, there is a project of global phylogeny of trout around the Mediterranean sea lead by the Ljubljana lab of genetics (Ales Snoj, Slovenja) and a present phylogenetic work by Sasa Maric (Montenegro). Nearly all the populations analyzed here with microsatellites are involved in the phylogeny paper (see last column of Table 1)*

## **2. Echantillonnage**

L'échantillonnage des truites analysées ici a été constitué

- Stéphane Muracciole pour tous les échantillons corses (Fédération de Pêche de Corse <stephane.muracciole@onf.fr>);
- Marco Arculeo pour les truites de Roma, de Sicile et de Calabre (Università di Palermo, <marco.arculeo@unipa.it>
- Andrea Sabatini pour les truites de Sardaigne (Università di Cagliari <asabati@unica.it>)
- Vincenzo Caputo pour les truites domestiques italiennes (Università Politecnica delle Marche, Ancona <v.caputo@univpm.it>)
- Patrick Berrebi pour les truites domestiques françaises (Université de Montpellier <patrick.berrebi@univ-montp2.fr>)

La distribution géographique des stations est précisée à la Figure 1. La composition et les caractéristiques des échantillons sont présentées au Tableau 1. Aux échantillons de rivières ont été rajoutés pour comparaison des échantillons de truites domestiques. L'ensemble des données permettra de produire des résultats interprétables.



*Figure 1 : Répartition géographiques des 25 échantillons sauvages analysés dans le présent rapport. Les détails techniques sont donnés au Tableau 1.*

N° map	Locality	Region	N	Sampling date	N° ISEM first fish	Field N°	N° ISEM sample	mtDNA
1	Ese	Corsica	20	2004	T08054	L-41	F309	5AD
2	Pozzi	Corsica	20	2004	T08274	L-261	F320	6AD
3	Lataga	Corsica	20	02/07/2005	T18604	OEC18-01	L339	6AD
4	U Furcone	Corsica	20	27/09/2011	T19942	OEC23-01	L395	5AD+1AT
5	Puzzatelli	Corsica	20	06/09/2013	T23192	OEC2013-104	L247	7AD
6	Maghjine	Corsica	21	2012	T23330	2012-OEC28-01	L514	7AD
7	Aqua d'Acelli	Corsica	20	17/07/2013	T25192	OEC2013-062	L230	in process
8	Tassineta	Corsica	19	2012	T23311	2012-OEC27-01	L513	7AD
9	Precariti	Calabria	5	13/03/2013	T25294	Calabre 01	F375	-
10	Mula	Calabria	4	2013	T25299	Calabre 06	F474	-
11	Allaro	Calabria	5	03/07/2013	T25303	Calabre 10 - 12	F475	5AT
12	Ancinale	Calabria	4	04/07/2013	T25308	Calabre 15 - 4	F476	3AD
13	Carusi	Calabria	5	06/07/2013	T25312	Calabre 19 - 17	F477	-
14	Rotta	Calabria	3	07/07/2013	T25317	Calabre 24 - 1	F478	-
15	Diga Giulia	Calabria	7	25/07/2013	T25320	Calabre 27	F479	3AD+2AT
16	Ermolinus	Sardinia	17	27/02/2007	T12208	MON2-1	F398	3AD+4AT
17	Marroccu	Sardinia	30	18/01/2007	T12225	CAM2-1	F399	4AD
18	Is Abius	Sardinia	12	04/11/2009	T16246	Sard-IS-01	F425	4AD
19	Camboni	Sardinia	18	04/11/2009	T16258	Sard-CA-13	F426	-
20	Sadali-Esterzili	Sardinia	14	11/11/2009	T16276	Sard-ES-41	F427	9AT
21	Anapo	Sicily	17	12/05/2013	T25009	Anapo-01	F471	7AT
22	Manghisi	Sicily	11	12/05/2013	T25026	Manghisi-01	F472	4AT
23	San Marco	Sicily	6	12/05/2013	T25037	San Marco-01	F473	-
24	Simbrivio	Roma	9	2014	T26089	1AF	L563	1AD+2AT
25	Aniene	Roma	7	2014	T26098	1SF	L564	3AD
26	Pisciculture Cantino	Italy	43	2014	T27492	H206-01	L633	Vicenzo?
27	Visso 1	Italy	20	2014	T27536	CH-01	L634	Vicenzo?
28	Visso 2	Italy	20	2014	T27556	K-01	L635	Vicenzo?
29	Pisciculture Isère	France	30	2008	T16926	108-101	L266	7AT

*Tableau 1 : caractéristiques des échantillons analysés lors de la présente étude. Ont été rajoutés des échantillons de référence (bas du tableau) de pisciculture (en gris).*

## 3. Méthodes

### 3a. Méthodes moléculaires

Chaque truite a été génotypée (détermination des deux allèles provenant de ses deux parents) au niveau de 12 locus microsatellites (Oneμ9, Mst85, Ss0SL-311, Omy21DIAS, Mst543, SSoSI-438, Sf01, Ssa197, Omm1105, SSoSI-417, Str591, et StrBS 131).

Les génotypes obtenus ont permis de construire la matrice de données à la base de tous les calculs qui suivent.

### 3b. Méthodes statistiques

Classiquement, trois types d'analyses statistiques permettent de comprendre la structure, la composition et parfois l'histoire des peuplements analysés.

- L'**analyse multidimensionnelle** (ici l'Analyse Factorielle des Correspondances ou AFC traitée par le logiciel GENETIX) est considérée comme un débroussaillage rapide des données faisant apparaître les grandes lignées présentes dans les échantillons analysés et dans les échantillons de référence.

- L'**analyse d'Assignment** (ici avec le logiciel STRUCTURE) recherche le meilleur découpage de l'ensemble des truites analysées de façon à regrouper celles qui se ressemblent le plus et pourraient appartenir à la même population (sous-groupes à l'équilibre génétique). La partie la plus délicate est de déterminer le nombre de sous-groupes le plus pertinent (K). K est automatiquement déterminé par la méthode d'Evanno grâce au logiciel en ligne STRUCTURE HARVESTER, mais les autres valeurs de K peuvent aussi être explorées.

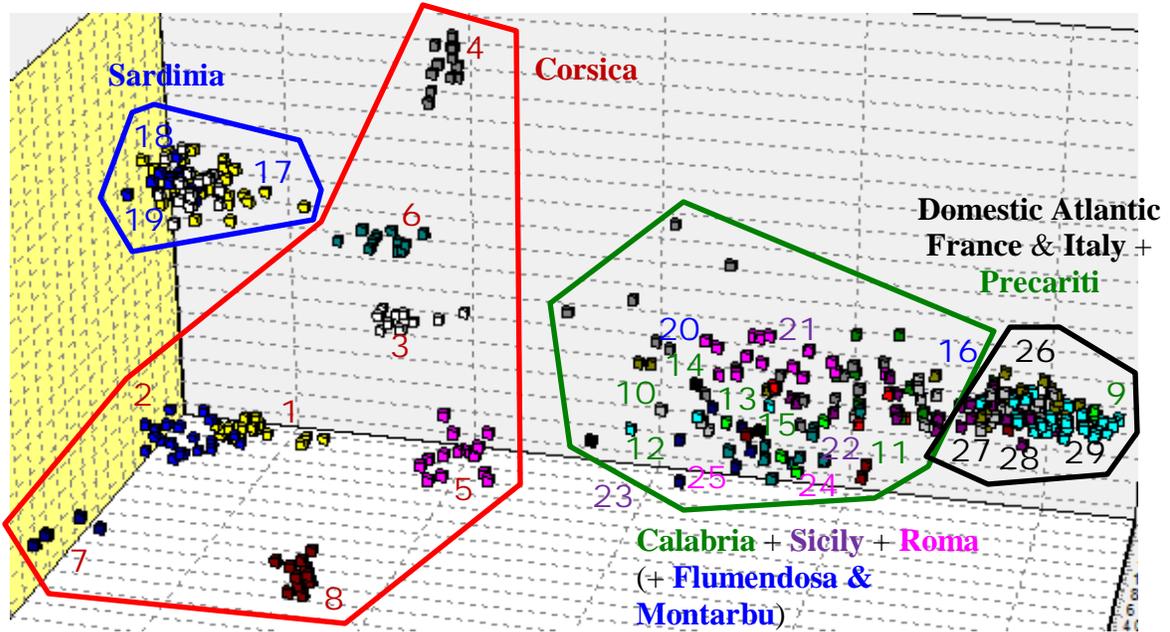
- Les **paramètres populationnels** sont de divers types. Certains décrivent la diversité génétique de chaque population (Hnb, Ho et A); un autre décrit l'équilibre panmictique (reproduction au hasard de toutes les truites de la population) avec le Fis; un autre détermine la quantité de différence génétique entre populations prises 2 à 2 (le Fst).

Ces paramètres permettent d'interpréter les résultats génétiques.

## 4. Résultats

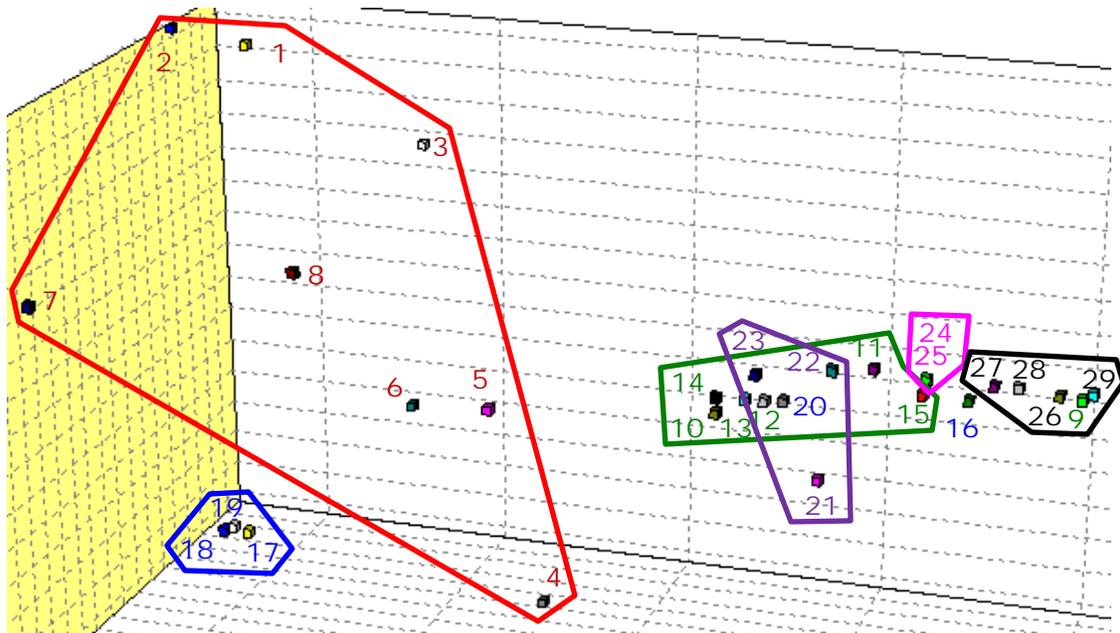
### 4a. Analyse multidimensionnelle

La Figure 2 positionne chaque truite (= un point) dans un hyperespace mathématique. Ce diagramme permet de voir les regroupements (= nuages) caractéristiques des types génétiques en présence dans l'échantillonnage total (échantillons de la présente étude et échantillons de référence).



**Figure 2 :** Positionnement de toutes les truites génotypées (de la présente étude et des échantillons de référence) dans un hyperspace dont le graphique présente une version simplifiée à deux dimensions. Globalement cette analyse met en relief l'immense diversité des truites corses, la proximité des truites domestiques (pointe à droite) et de Sicile-Calabre-Roma...

*Here we can see a Factorial Correspondence Analysis (FCA) showing the huge diversity of Corsican trout and the proximity of the Sicilian-Calabrian-Roma trout with the French and Italian Atlantic domestic strains (right extremity).*

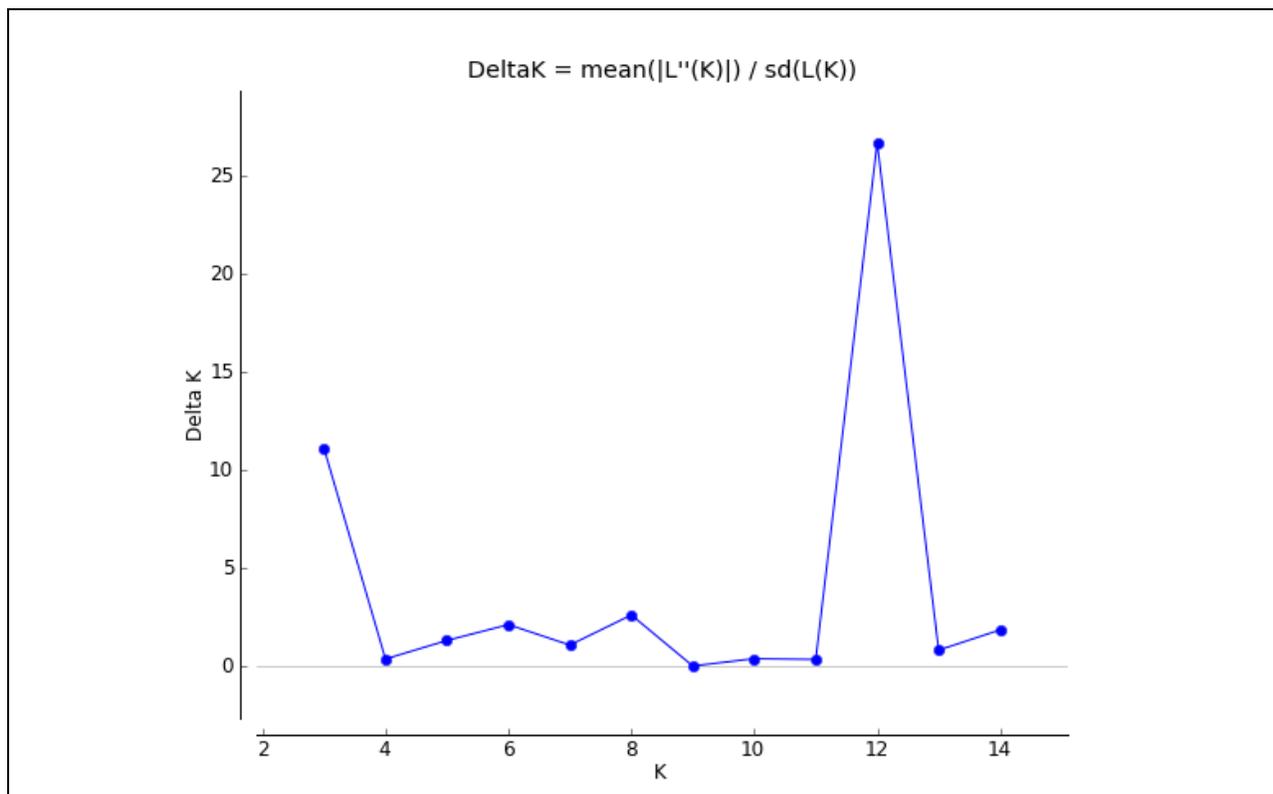


**Figure 3 :** Même analyse que dans la Figure 2, mais seuls les centre de gravité (= centroïdes = barycentres) de chaque échantillon est présenté. Les numéros sont ceux du Tableau 1. Les couleurs sont conservées.

*Same analysis but presenting **only the centroids** of each sample. The numbers are those of the Table 1. Follow the colors between the two figures.*

#### 4b. Analyse d'assignation

L'analyse d'assignation permet de découper l'échantillonnage total (truites de la présente étude et des échantillons de référence) en  $K$  sous-unités en équilibre populationnel, sans tenir compte de l'appartenance de chaque truite à un échantillon géographique. Le logiciel d'aide à la décision, STRUCTURE HARVESTER, suggère que  $K=12$ , mais les autres valeurs de  $K$  peuvent aussi être explorées.



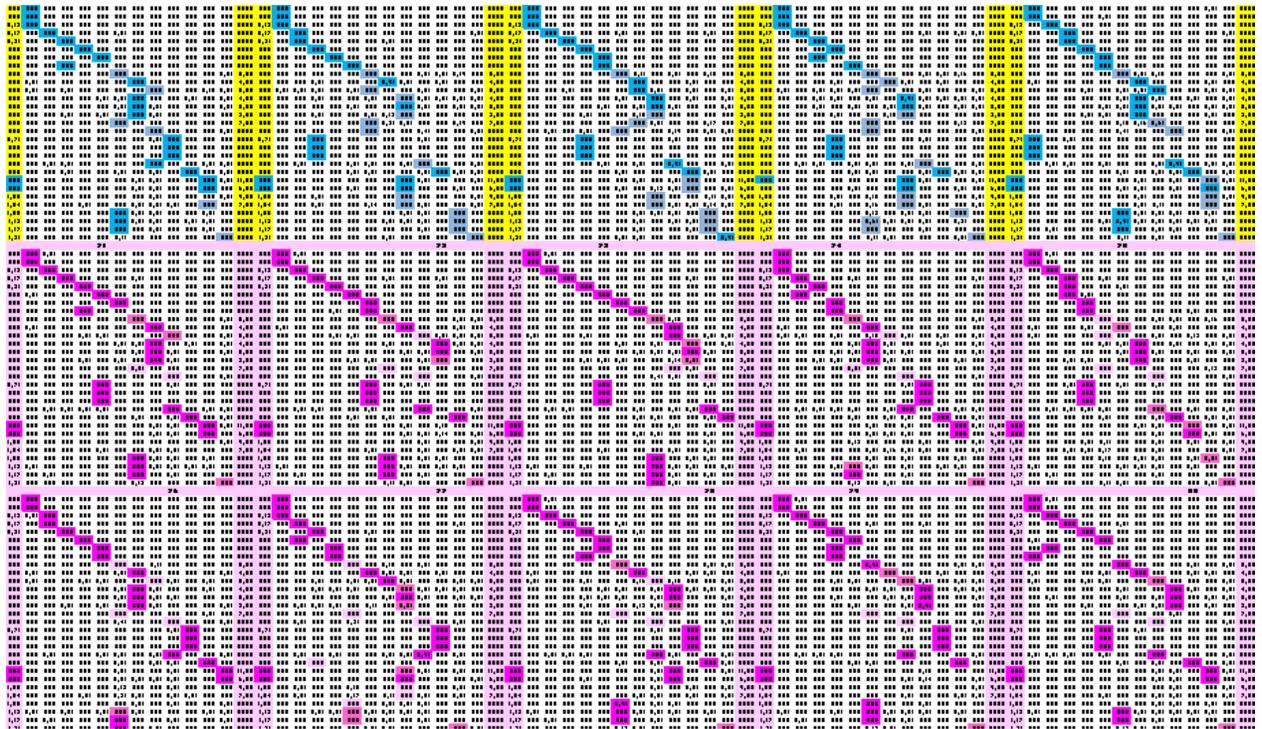
**Figure 4 :** Le logiciel d'aide à la décision, STRUCTURE HARVESTER, suggère que  $K=12$  (test DeltaK d'Evanno et al. 2005).

*Following STRUCTURE tests with  $K=2$  to 15 and according to STRUCTURE HARVESTER,  $K=12...$  which means that 12 subgroups are detected within the whole sampling, irrespective to the individual origins (assignment method).*

La Figure 5 montre qu'aucun test bayésien d'assignation ne donne exactement le même résultat. Dans ce cas, une assignation consensus peut être obtenue grâce à CLUMPP,

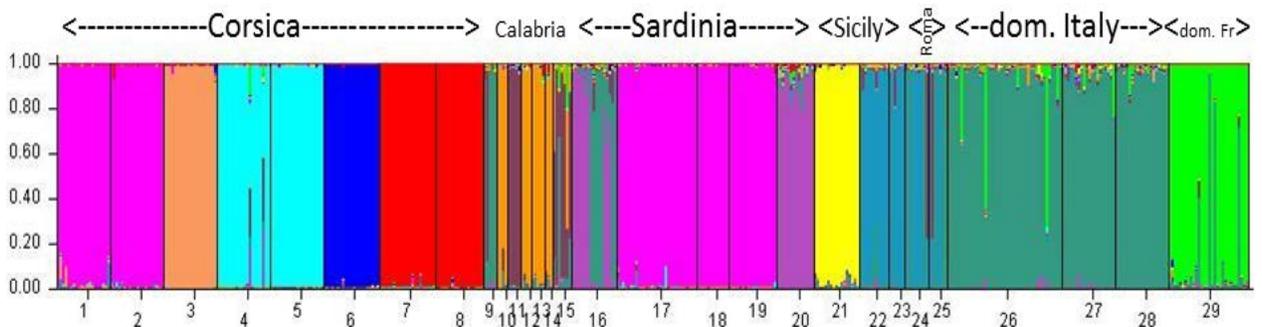
La Figure 3 donne l'histogramme obtenu pour  $K=12$  le plus proche du consensus produit par CLUMPP (il n'est pas possible de produire un histogramme consensus). Il permet de déterminer la composition de chaque échantillon en pourcentages des  $K$  sous-unités détectées.

Le Tableau 2 donne les pourcentages d'assignation consensus (post- CLUMPP).



**Figure 5 :** Présentation des 15 tests d'assignation tentés pour  $K=12$ . Pour chacun des 15 mini-tableaux, les colonnes sont les 12 sous-groupes détectés et les 29 lignes sont les échantillons élémentaires. Les cellules colorées (bleues ou roses) montrent la lignée majoritaire pour chaque échantillon. Bien que très similaires, aucune structure majoritaire émerge (elles sont toutes légèrement différentes).

Fifteen mini-tables (in each, 12 columns = 12 assignment subgroups, 29 lines are the samples) showing that STRUCTURE gave no stable results: the 15 runs were slightly different. That is why the use of the CLUMPP program was necessary to obtain a consensus structure (given in Figure 6 and Table 2 and based on 15 original runs)



**Figure 6 :** Présentation de l'analyse d'assignation sous forme d'histogramme coloré. Les couleurs sont distribuées au hasard aux  $K$  sous unités détectées. Chaque truite est représentée par une fine ligne verticale. Les numéros des échantillons sont ceux du Tableau 1. Il s'agit là du run le plus proche de la structure consensus.

(A ce stade de mes calculs, CLUMPP refuse de fonctionner... Je ferai d'autres essais, en particulier avec le nouveau service en ligne KLUMPAK.... Ici j'ai utilisé une autre méthode, non

publiable, pour rechercher le découpage consensus en Figure 6: celui dont la somme des différences de fréquences avec la fréquence moyenne est la plus faible)

(Unfortunately, CLUMPP does not work... But I'll try again, especially with the new online service CLUMPAK. For the moment, I used an unpublishable method: I chose the histogram which sum of differences with the mean frequencies is the lowest: Figure 6)

N° map	Locality	Region	N	Corsica-Sardinia A (AD)	Corsica B (AD)	Corsica C (AD)	Corsica D (AD)	Corsica E (AD)	Calabria A (AD? AT?)	Calabria B (AD? AT?)	Sicily A (AT)	Sicily B (AT)	domestic Sardinia ?	domestic strain Italy (AT?)	domestic strain France (AT)	mtDNA
1	Ese	Corsica	20	96	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	5AD
2	Pozzi	Corsica	20	97	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	6AD
3	Lataga	Corsica	20	0	98	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6AD
4	U Furcone	Corsica	20	0	0	92	0	0	0	3	0	0	3	0	1	5AD+1AT
5	Puzzatelli	Corsica	20	0	0	98	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7AD
6	Maghjine	Corsica	21	0	0	0	98	0	0	0	0	0	0	0	0	7AD
7	Aqua d'Acelli	Corsica	20	0	0	0	0	98	0	0	0	0	0	0	0	in process
8	Tassineta	Corsica	19	0	0	0	0	98	0	0	0	0	0	0	0	7AD
9	Preariti	Calabria	5	0	0	0	0	0	1	18	0	0	2	77	1	-
10	Mula	Calabria	4	1	0	0	0	0	93	3	0	1	0	2	0	-
11	Allaro	Calabria	5	0	0	0	1	0	1	96	0	1	0	1	1	5AT
12	Ancinale	Calabria	4	0	0	0	0	0	94	1	1	0	0	1	1	3AD
13	Carusi	Calabria	5	0	0	0	0	1	94	1	0	1	1	1	1	-
14	Rotta	Calabria	3	0	0	0	1	1	92	3	0	1	0	0	0	-
15	Diga Giulia	Calabria	7	0	0	0	0	0	16	61	0	0	2	15	5	3AD+2AT
16	Ermolinus	Sardinia	17	0	0	0	0	0	0	3	0	0	53	41	1	3AD+4AT
17	Marroccu	Sardinia	30	97	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4AD
18	Is Abius	Sardinia	12	98	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4AD
19	Camboni	Sardinia	18	98	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
20	Sadali-Esterzili	Sardinia	14	0	1	1	0	1	0	1	0	1	91	3	1	9AT
21	Anapo	Sicily	17	0	0	0	0	0	0	1	95	0	1	1	1	7AT
22	Manghisi	Sicily	11	0	0	0	0	0	1	2	0	90	1	5	1	4AT
23	San Marco	Sicily	6	0	0	0	0	0	1	3	0	93	1	1	0	-
24	Simbrivio	Roma	9	0	0	0	0	0	1	9	0	56	0	32	1	1AD+2AT
25	Aniene	Roma	7	0	0	0	0	0	1	11	0	44	0	42	0	3AD
26	Pisciculture Cantino	Italy	43	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	90	6	Vicenzo?
27	Visso 1	Italy	20	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	91	3	Vicenzo?
28	Visso 2	Italy	20	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	95	2	Vicenzo?
29	Pisciculture Isère	France	30	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	11	86	7AT

Tableau 2 : Composition de chaque échantillon analysé et des échantillons de référence en pourcentages des K=12 sous-unités génétiques détectées. Les valeurs égales ou inférieures à 5 sont à la limite de sensibilité de la méthode (= bruit de fond) et ne sont pas significatives. Les couleurs des cellules rendent compte de l'importance des pourcentages obtenus. Il s'agit là de la composition consensus (je dois refaire la même chose en utilisant CLUMPP).

La structure génétique des truites tyrrhéniennes présente trois éléments principaux (Figures 2 et 3):

- Un polymorphisme immense en Corse et Sardaigne situé entre échantillons et pas dans les échantillons. On a donc une multitude d'entités isolées, différenciées entre elles mais ce sont des populations (7 en Corse et 1 en Sardaigne, mais la diversité Corse est bien plus importante) peu polymorphes : Hnb entre 8 et 26% en Corse, 41 à 45% en Sardaigne (les valeurs de 74 et 79% sont dues à l'introggression domestique). Structure n'en voit que 5 (Tableau 2) car il regroupe 3 populations sardes (17, 18 et 19) avec les populations 1 et 2 de Corse, et il regroupe les populations 7 et 8 de Corse, ce qui est moins évident en analyse multidimensionnelle.

- Présence de truites atlantiques sauvages et domestiques difficiles à séparer à la Figure 2. Mais selon l'analyse d'assignation (Tableau 2) il y aurait:

- \* deux types sauvages atlantiques ou adriatiques en Calabre et pas ailleurs,
- \* deux types atlantiques sauvages en Sicile et, plus surprenant, dans la région de Roma,
- \* une souche domestique atlantique en Sardaigne (populations 16 et 20 et pas ailleurs),
- \* une souche domestique atlantique dans les piscicultures italiennes des Marches qu'on retrouve en Calabre (population 9), en Sardaigne (population 16) et près de Roma (populations 24 et 25),

- \* une souche domestique atlantique dans la pisciculture française (pas trouvée en rivière).

*At this step, the structure of the 25 analyzed populations can be summarized into:*

*- A huge polymorphism in Corsica and Sardinia composed of highly diversified populations, each with low diversity. Hnb (the best parameter to describe polymorphism) is very low in Corsica (8 to 26%) and low in Sardinia (41 to 45%). The highly polymorphic populations in Sardinia (74 to 79%) are admixed with domestic strain*

*- A lot of Atlantic lineages, wild and domestic, sometimes difficult to be sure they are wild or domestic:*

- \* 2 wild AT or AD lineages in Calabria*

- \* 2 wild AT in Sicily, but also in Roma zone (while introgressed by the last lineage of this listing)*

- \* 1 domestic AT lineage in Sardinia*

- \* 1 domestic AT lineage in north Italian (Marches) fish farms*

- \* 1 domestic AT lineage in French fish farm*

#### **4c. Paramètres populationnels**

Les analyses de composition ou de structure (multidimensionnelle et d'assignation) ne sont pas les seules à apporter des informations. Les paramètres populationnels sont particulièrement importants pour obtenir des informations biologiques sur les populations analysées.

Ainsi les paramètres H et A renseignent sur le polymorphisme de chaque population. Ho est la diversité génétique observée et Hnb est cette même diversité telle qu'elle serait si la population était panmictique (reproduction au hasard entre tous ses membres, donc présence d'une seule lignée). L'écart entre Ho et Hnb permet de calculer le Fis qui renseigne sur cette panmixie. Le Tableau 3 donne les résultats obtenus ainsi que leur niveau de significativité.

Avec Hnb (corrigé par la taille de l'échantillon), le polymorphisme mesuré est moins influencé par le faible effectif. C'est le meilleur indice pour suivre ce polymorphisme.

De manière générale, avec les microsatellites utilisés, une population de grande taille, n'ayant pas subi de bottleneck, doit avoir un Hnb d'environ 0,7.

Ce n'est jamais le cas en Corse ( $0,08 < H_{nb} < 0,26$ ), ni en Sardaigne ( $0,41 < H_{nb} < 0,45$ , sont exclues les populations 16 et 20 introgressées à 40 et 90% par la forme domestique italienne).

Par contre, en Calabre, les populations échantillonnées sont fortement polymorphes ( $0,61 < H_{nb} < 0,75$ , à l'exception des petits ruisseaux Mula à 0,23 et Rotta à 0,59).

Enfin, en Sicile, le polymorphisme est variable, de 0,49 à 0,62.

Le fort polymorphisme des deux échantillons de la région de Roma ( $H_{nb}=0,75$ ) est en partie dû à la présence domestique (30 et 40%).

La panmixie est quasi générale (bonne qualité des génotypages) avec comme exceptions les populations introgressées par les truites domestiques (effet Wahlund): Precariti en Calabre, Ermolinus en Sardaigne, les deux populations près de Roma...

*- The higher  $H_{nb}$ , the higher admixture with domestic AT strains.*

*- Panmixia is dominant ( $F_{is}$  ns) except admixed populations: Precariti in Calabria, Ermolinus in Sardinia, Roma region two samples.*

N° map	Locality	Region	N	Hnb	Ho	A	Fis
1	Ese	Corsica	20	0,26	0,28	2,2	-0,09
2	Pozzi	Corsica	20	0,23	0,21	2,1	0,10
3	Lataga	Corsica	20	0,08	0,08	1,6	0,08
4	U Furcone	Corsica	20	0,21	0,20	2,8	0,08
5	Puzzatelli	Corsica	20	0,20	0,18	1,8	0,11
6	Maghjine	Corsica	21	0,10	0,09	1,5	0,14
7	Aqua d'Acelli	Corsica	20	0,08	0,08	1,8	-0,04
8	Tassineta	Corsica	19	0,15	0,18	1,4	-0,15
9	Precariti	Calabria	5	0,72	0,56	4,1	0,24
10	Mula	Calabria	4	0,23	0,10	1,8	0,58
11	Allaro	Calabria	5	0,70	0,67	3,8	0,06
12	Ancinale	Calabria	4	0,63	0,58	3,2	0,09
13	Carusi	Calabria	5	0,61	0,58	3,6	0,06
14	Rotta	Calabria	3	0,59	0,53	2,8	0,14
15	Diga Giulia	Calabria	7	0,75	0,69	4,8	0,08
16	Ermolinus	Sardinia	17	0,74	0,67	6,3	0,10
17	Marroccu	Sardinia	30	0,45	0,43	3,3	0,04
18	Is Abius	Sardinia	12	0,41	0,47	2,6	-0,13
19	Camboni	Sardinia	18	0,45	0,49	2,7	-0,10
20	Sadali-Esterzili	Sardinia	14	0,79	0,78	7,2	0,01
21	Anapo	Sicily	17	0,49	0,47	4,7	0,05
22	Manghisi	Sicily	11	0,62	0,50	5,8	0,20
23	San Marco	Sicily	6	0,49	0,46	3,2	0,07
24	Simbrivio	Roma	9	0,75	0,61	5,8	0,19
25	Aniene	Roma	7	0,75	0,63	5,3	0,18
26	Pisciculture Cantino	Italy	43	0,74	0,75	9,6	-0,01
27	Visso 1	Italy	20	0,78	0,75	8,8	0,03
28	Visso 2	Italy	20	0,76	0,73	8,1	0,04
29	Pisciculture Isère	France	30	0,67	0,67	6,3	0,00

**Tableau 3** : Paramètres populationnels donnant des informations sur le polymorphisme (entêtes bleues), et la panmixie (entêtes orange).

Niveau de polymorphisme: le dégradé de couleurs donne le niveau de polymorphisme décroissant (haut, moyen, bas) jusqu'à extrêmement bas en gris.

Niveau de significativité des Fis: orange foncé = très hautement significatif (\*\*\*); orange moyen = hautement significatif (\*\*); jaune = significatif (\*); blanc = non significatif, population à l'équilibre panmictique.

Parameters of polymorphism (blue heads) with decreasing values: high, medium, low, very low and of panmixia (orange head) (\*\*\*, \*\* and \* significant; no color = non-significant = in panmictic equilibrium)

Les Fst mesurent la différenciation génétique entre populations prises deux par deux (Tableau 4).

Fst	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
1	0	0,46	0,76	0,75	0,74	0,78	0,78	0,77	0,61	0,74	0,60	0,63	0,62	0,65	0,56	0,49	0,59	0,64	0,61	0,45	0,63	0,56	0,65	0,53	0,55	0,45	0,46	0,47	0,51	1
2		0	0,79	0,76	0,76	0,80	0,80	0,75	0,62	0,76	0,60	0,66	0,65	0,68	0,58	0,51	0,60	0,65	0,61	0,48	0,64	0,60	0,68	0,56	0,57	0,46	0,48	0,49	0,52	2
3			0	0,83	0,83	0,89	0,90	0,87	0,75	0,88	0,73	0,78	0,76	0,82	0,69	0,57	0,67	0,76	0,71	0,54	0,72	0,69	0,79	0,65	0,68	0,50	0,54	0,54	0,56	3
4				0	0,77	0,82	0,84	0,81	0,63	0,77	0,60	0,68	0,67	0,71	0,57	0,49	0,56	0,64	0,59	0,45	0,61	0,59	0,68	0,57	0,59	0,44	0,46	0,47	0,51	4
5					0	0,83	0,83	0,77	0,64	0,73	0,60	0,61	0,59	0,60	0,57	0,52	0,64	0,70	0,66	0,47	0,59	0,53	0,63	0,53	0,57	0,46	0,49	0,50	0,52	5
6						0	0,89	0,87	0,74	0,87	0,72	0,78	0,76	0,80	0,68	0,57	0,59	0,71	0,64	0,54	0,71	0,68	0,79	0,64	0,66	0,49	0,54	0,53	0,56	6
7							0	0,84	0,76	0,89	0,75	0,77	0,75	0,80	0,69	0,58	0,66	0,74	0,69	0,57	0,73	0,69	0,79	0,65	0,69	0,52	0,56	0,57	0,59	7
8								0	0,69	0,82	0,68	0,71	0,69	0,73	0,63	0,55	0,66	0,73	0,69	0,51	0,66	0,60	0,68	0,57	0,61	0,48	0,50	0,52	0,53	8
9									0	0,44	0,13	0,23	0,26	0,23	0,07	0,05	0,46	0,46	0,45	0,12	0,38	0,25	0,34	0,13	0,09	0,07	0,07	0,06	0,10	9
10										0	0,44	0,42	0,44	0,43	0,30	0,40	0,57	0,62	0,59	0,36	0,52	0,42	0,53	0,38	0,38	0,38	0,37	0,39	0,42	10
11											0	0,24	0,26	0,24	0,12	0,13	0,46	0,47	0,45	0,16	0,36	0,22	0,29	0,16	0,16	0,15	0,13	0,13	0,18	11
12												0	0,01	-0,02	0,16	0,20	0,47	0,48	0,46	0,19	0,40	0,25	0,29	0,14	0,14	0,20	0,19	0,20	0,24	12
13													0	-0,02	0,20	0,22	0,48	0,49	0,47	0,19	0,43	0,24	0,28	0,14	0,14	0,23	0,22	0,22	0,27	13
14														0	0,18	0,22	0,48	0,50	0,47	0,19	0,42	0,24	0,29	0,14	0,13	0,23	0,23	0,24	0,26	14
15															0	0,10	0,43	0,43	0,42	0,11	0,34	0,23	0,29	0,12	0,09	0,10	0,09	0,09	0,13	15
16																0	0,39	0,38	0,37	0,10	0,32	0,24	0,29	0,12	0,11	0,09	0,07	0,06	0,12	16
17																	0	0,08	0,01	0,34	0,50	0,48	0,52	0,43	0,43	0,38	0,38	0,39	0,43	17
18																		0	0,05	0,33	0,51	0,48	0,54	0,42	0,42	0,37	0,37	0,42	18	
19																			0	0,32	0,49	0,46	0,52	0,41	0,42	0,37	0,37	0,37	0,42	19
20																				0	0,32	0,20	0,24	0,12	0,10	0,12	0,10	0,11	0,15	20
21																					0	0,33	0,39	0,34	0,35	0,31	0,30	0,31	0,36	21
22																						0	0,04	0,15	0,13	0,23	0,21	0,23	0,26	22
23																							0	0,18	0,20	0,28	0,26	0,29	0,30	23
24																								0	-0,02	0,11	0,11	0,12	0,15	24
25																									0	0,09	0,09	0,09	0,14	25
26																										0	0,03	0,02	0,08	26
27																											0	0,00	0,07	27
28																											0	0,07	28	
29																														29
	Corsica								Calabria							Sardinia					Sicily			Roma		domestic Atlantic				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	

**Tableau 4 :** Matrice triangulaire des Fst par paire d'échantillon. Seules les comparaisons en vert ne sont pas significatives (=les deux échantillons comparés sont identiques). Toutes les autres comparaisons concluent à des différences génétiques réelles entre échantillons testés. Les valeurs en jaune désignent des paires moins fortement différentes (Fst significatifs à 95% seulement).

Heat map of Fst comparing each pair of samples. Green is non-significant Fst while yellow to dark-orange indicates growing levels of significance. The gray part of the table indicates very small samples (less than 10) and it corresponds to rather low significance (yellow). That is why grouping similar samples should be necessary to avoid this bias.

## 5. Interprétation - discussion

Vous avez lu un rapport rapide sur les analyses en cours sur les échantillons de truites dites "tyrrhéniennes" au moyen de 12 microsatellites.

L'image obtenue aux figures 2 et 3 sont sûres et stables grâce à la méthode multidimensionnelle employée (AFC) mais est très conservative (peu de détails).

J'ai eu quelques problèmes avec Structure malgré 200 000 burn'in et 300 000 itérations: la méthode d'Evanno indique clairement qu'il y a 12 sous-unités mais en produisant 15 essais, aucune assignation n'est identique. Je vais résoudre ce problème en utilisant CLUMPP ou le récent CLUMPAK qui produisent une assignation consensus à partir de plusieurs runs (c'est en cours).

L'assignation par STRUCTURE est d'accord avec l'AFC mais détaille beaucoup plus les différentes lignées présentes. La difficulté est maintenant de distinguer les lignées atlantiques naturelles (comme en Sicile, Schöffmann et al. 2007) et domestiques (comme la lignée des piscicultures italiennes des Marches qu'on retrouve dans la région de Rome). Le problème est que tant que l'assignation consensus n'a pas été faite avec rigueur, les hypothèses de ce rapport à ce sujet doivent attendre confirmation.

En conclusion, ce travail doit s'appuyer sur la phylogénie en construction sur les truites de cette région. Ensemble, microsatellites et séquences de la DLoop nous montrent bien (i) une entité hétérogène entre Corse et Sardaigne, formée de petites populations longtemps isolées et donc différenciées, (ii) deux lignées AD ou AT ou mixtes endémiques de Calabre, (iii) deux formes apparemment sauvages de truites atlantiques en Sicile (mais aussi dans la région de Rome, ce qui fait douter de ce diagnostic) et (iv) de nombreuses souches atlantiques probablement domestiques mais proches entre elles.

Il y a quelques travaux complémentaires à faire: (a) regrouper des échantillons à faible effectif mais génétiquement similaires, mais je dois attendre le consensus final d'assignation; (b) faire un arbre phénétique (distances génétiques), mais je dois attendre de faire les regroupements... qui attendent l'assignation consensus...

Je suis très demandeur de toute remarque, critique et suggestions sur ce travail qui doit aboutir à une publication dès que le travail de phylogénie est publié.

Amicalement

*You have read a quick report on ongoing analyzes of samples of trout called "Tyrrhenian" using 12 microsatellites.*

*The image obtained in Figures 2 and 3 are sure and stable, thanks to the multidimensional method used (FCA) but is very conservative (few details).*

*I had some problems with structure despite a burn'in of 200,000 repetitions followed by 300,000 iterations. The DeltaK Evanno method clearly indicates that there are 12 subunits. However, when I produced 15 runs, no assignment is identical. I will solve this problem by using CLUMPP or the recent CLUMPAK that produce a consensus assignment from multiple runs (this is in progress).*

*Assignment by STRUCTURE agrees with the AFC but details much more the different lines present in the sampling. The challenge now is to distinguish natural Atlantic lineages (as in Sicily, Schöffmann et al. 2007) and domestic ones (like the strain of Marches Italian farms found in the region of Roma). The problem is that, as the assignment consensus was not made with rigor, the assumptions of this report must wait confirmation.*

*In conclusion, this work must be supported by the phylogeny in construction. Together, microsatellite + DLoop sequences show us (i) a heterogeneous entity between Corsica and Sardinia, formed by small populations long isolated and therefore differentiated, (ii) two lines of endemic (AT, AD or mixed) in Calabria, (iii) two apparently wild forms of Atlantic trout lineages in Sicily (but also in the Roma area, which casts doubt on the interpretation) and (iv) many Atlantic strains probably domestic but close together.*

*There are some additional works to do: (a) gather samples genetically similar to reach large sample sizes, but I have to wait for the final consensus assignment; (b) a phenetic tree (genetic distances), but I have to wait to confirm the groupings ... groupings awaiting a robust consensus assignment...*

*I welcome any comments, criticism and suggestions on this work which should lead to a publication as soon as the phylogeny work is published.*

*Sincerely*

Patrick Berrebi

*Fait à Montpellier le 18 février 2015*

## **6. Références bibliographiques**

Schöffmann J, Susnik S, and Snoj A. 2007. Phylogenetic origin of *Salmo trutta* L 1758 from Sicily, based on mitochondrial and nuclear DNA analyses. *Hydrobiologia* 575: 51-55.